

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1953-1954. — N° 164

Corticoïdes urinaires et Corticostéroïdes

Nouvelle technique de dosage des corticoïdes
et applications pratiques
au cours de la grossesse normale

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON

et soutenue publiquement le 6 Juillet 1954

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Guy CHARRIÈRE

Né le 22 Mai 1927, à Chambéry (Savoie)

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

J. PATISSIER

—
1954

CORTICOÏDES URINAIRES
ET CORTICOSTÉROÏDES



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Corticoïdes urinaires et Corticostéroïdes

Nouvelle technique de dosage des corticoïdes
et applications pratiques
au cours de la grossesse normale

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON

et soutenue publiquement le 6 Juillet 1954

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Guy CHARRIÈRE

Né le 22 Mai 1927, à Chambéry (Savoie)

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

J. PATISSIER

—
1954

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire	M. J. LÉPINE
Doyen	M. H. HERMANN
Assesseur	M. J. GATE

Professeurs Honoraires

MM. NICOLAS, COLLET, CLUZET, BÉRARD, GUIART, PIÉRY, CADE, PATEL.
LÉPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE, MOURIQUAND, MAZEL, LEULIER

Professeurs

Clinique médicale A.....	FRÉMONT
Clinique médicale B.....	P. KAVAUULT
Clinique chirurgicale A.....	SANTY
Clinique chirurgicale B.....	WERTHEIMER
Clinique Ophtalmologique	BONNET
Clinique urologique	CIBERT
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.....	DUFOUT
Clinique dermatologique et syphiligraphique.....	GATE
Clinique neuro-psychiatrique et Hygiène mentale...	DECHAUME
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie...	SEDALLIAN
Clinique chirurgicale orthopédique et infantile...	GUILLEMINET
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Clinique obstétricale	PIGEAUD
Clinique stomatologique	DUCLOS
Clinique médicale Infantile et Hygiène du 1 ^{er} Age..	BERNHEIM
Clinique oto-rhino-laryngologique	MAYOUX
Physiologie	HERMANN
Anatomie Pathologique	J. F. MARTIN
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie..	PONTHUS (détaché à Beyrouth)
Parasitologie et Pathologie exotique.....	GARIN
Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire..	ROCHET
Chimie organique et toxicologie.....	CHAMBRON
Pathologie générale et expérimentale.....	JOSSERAND
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	DELORE
Anatomie	GABRIELLE
Pathologie interne	CROIZAT
Chimie biologique et médicale.....	ENSELME
Pathologie chirurgicale	MALLET-GUY
Histologie	NOEL
Pharmacie galénique et matière médicale	REVOL
Médecine du Travail.....	BOURRET
Thérapeutique	LEVAT
Hygiène	SOHIER
Biologie médicale et pharmacodynamie.....	JOURDAN
Botanique et Cryptogamie.....	NETIEN
Propédeutique chirurgicale	BERTRAND
Chimie analytique Pharmaceutique	BADINAND
Pharmacie et Pharmacologie.....	DREVON
Médecine Légale et Déontologie.....	ROCHE

Professeurs titulaires sans chaire

Obstétrique	BANSSILLON	Physique biologique	BERGER
-------------------	------------	--------------------------	--------

Maîtres de conférences — Agrégés

Parasitologie	ROMAN	Biochimie médicale	CREYSSEL R.
Parasitologie	COUDERT	Bactériologie	BEKTOYE A.
Physiologie	CIER	Histologie	X...
Physiologie	CHATONNET		

Agrégés en exercice

Pathologie médicale	BRUN	Orthopédie	MARION J.
Pathologie médicale	GIRARD M.	Obstétrique	BROCHIEF
Pathologie médicale	GIRARD P.	Obstétrique	MAGNIN
Pathologie médicale	JEUNE	Obstétrique	MATHIEU J.
Pathologie médicale	VACHON	Anatomie	LATARJET
Pathologie médicale	GALY	Anatomie pathologique.	GUICHARD A.
Pathologie médicale	GONIN	Ophtalmologie	PAUFIQUE
Pathologie chirurgicale. BÉRARD		Dermato-syphiligraphie.	THIERS
Pathologie chirurgicale. DESJACQUES		Urologie	PERRIN
Pathologie chirurgicale. TRILLAT A.		Neuro-chirurgie	LECUIRE
Pathologie chirurgicale. LABRY		Oto-Rhino-Laryngologie.	X...
Pathologie chirurgicale. MANSUY		Médecine légale et méde-	
Pathologie chirurgicale. DARGENT		cine du travail.....	X...
Pathologie chirurgicale. GUILLET			

Chargés des Fonctions de Maître de conférences — Agrégés

Hygiène	BENAZET	Pharmacie et Pharmacol.	CIER A.
Histologie	DUMONT L.	Chimie organique et to-	
Physique biologique	MORET	xicologie	PERROT L.

Examinateurs de la Thèse

M. PIGEAUD, *Président* ;

MM. MAGNIN, THIERS et MATHIEU, *Assesseurs*.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A TOUS LES MIENS

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR H. PIGEAUD

PROFESSEUR DE CLINIQUE OBSTÉTRICALE

Nous avons été d'emblée séduit par l'intérêt qu'il manifeste à l'égard des problèmes actuels que pose l'Endocrinologie, et par son attitude encourageante vis-à-vis de toute tentative de recherche dans son Service.

Il nous a fait le grand honneur de s'intéresser à ce travail et d'accepter la présidence de notre Jury de Thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ MAGNIN
ACCOUCHEUR DES HÔPITAUX

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ THIERS
MÉDECIN DES HÔPITAUX

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ MATHIEU
CHIRURGIEN DES HÔPITAUX

*Nous les remercions de l'honneur
qu'ils nous font en acceptant d'être
nos Juges.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR R. BURTHIAULT

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX

ANCIEN CHEF DE CLINIQUE OBSTÉTRICALE

ANCIEN CHEF DE LABORATOIRE A LA CLINIQUE OBSTÉTRICALE

Il nous a suggéré le sujet de cette Thèse ; tout au long de ce travail, nous avons pu compter sur l'appui de ses conseils éclairés. Nous avons apprécié à tout moment sa bonté et sa sollicitude à notre égard.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

A MONSIEUR R. BETHOUX

PHARMACIEN BIOLOGISTE

ANCIEN ELÈVE A L'INSTITUT PASTEUR

CHEF DE LABORATOIRE A LA CLINIQUE OBSTÉTRICALE

Il a été le véritable animateur de ces recherches.

Son esprit critique parfaitement objectif et sa remarquable compétence technique nous ont guidé efficacement pour la réalisation de ce travail.

Pour l'aide et les conseils qu'il nous a amicalement prodigués, nous le prions de croire à notre profonde reconnaissance.

A MM. LES DOCTEURS DUMONT, NOTTER,
GARMIER, GONNET, CHARVET, FOURNIE

A MADAME POLLIER

A MADemoisELLE PAILLOT

*Qui ont contribué largement à la
partie technique de ce travail.*

A MADAME GRANGER

AVANT-PROPOS

L'intérêt que porte M. le Professeur PIGEAUD aux questions endocrinologiques, a déjà suscité de nombreux travaux à la Clinique Obstétricale.

Cette thèse s'inscrit à la suite d'une série fort longue, traitant des hormones gonadotropes et du prégnañdiol urinaire (dans ce dernier domaine, la Clinique Obstétricale possède une statistique exceptionnellement importante).

La partie pratique du présent travail, concernant l'élimination des Corticoïdes Réducteurs urinaires portant sur plusieurs centaines de dosages, a été extrêmement facilitée par la formule appliquée depuis ces dernières années au Pavillon K :

— La réunion et la collaboration continue en parfaite harmonie, dans un même service, de la clinique et du laboratoire. Ce fait n'est pas tellement fréquent et nous en soulignons l'intérêt.

Si la centralisation habituelle du laboratoire d'analyses s'impose pour des raisons de prix de revient et de spécialisation du personnel, elle tend à exagérer la dualité de tendances entre la clinique pure qui n'est que nuances et probabilités et le laboratoire qui ne doit être que rigueur expérimentale. De plus, l'isolement du laboratoire lui est défavorable pour de simples raisons techniques.

L'union du laboratoire et de la clinique, telle que l'a réalisée avec bonheur M. le Professeur PIGEAUD dans son Service, permet de vivre parfaitement « l'expérience du lit de la malade au photomètre » dans des conditions techniques très avantageuses ; permet de sérier les cas intéressants et de confronter à tout moment les données de l'un et de l'autre. Certes, il n'est pas encore question — il serait souhaitable qu'on puisse y parvenir — de faire du laboratoire clini-

que un véritable laboratoire de recherche pure qui nécessite des conditions de travail tout à fait particulières avec des exigences, quant au personnel et à l'outillage, au-dessus des moyens du laboratoire courant.

Comme le dit SCHWARTZ... « la recherche clinique pourvu qu'elle soit coordonnée, peut avec des techniques simples aussi bien qu'avec celles plus complexes, faire œuvre utile et créatrice ».

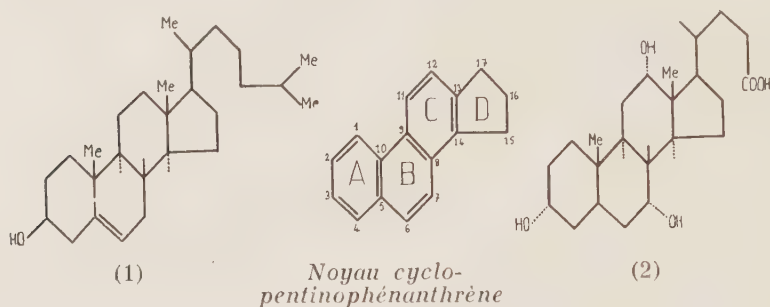
CHAPITRE PREMIER

Composés stéroïdes et stéroïdes cortico-surrénaux

La chimie des stéroïdes s'est développée d'une façon presque explosive, à la suite des travaux princeps de WIELAND et WINDAUS dans le domaine des stérols et des acides biliaires : en 1928, ces deux chercheurs, chimistes organiciens éminents, assignent une première formule tétracyclique au cholestérol et aux acides biliaires et méritent le prix Nobel pour ce remarquable résultat, fruit d'un travail qui avait déjà passionné plusieurs générations de chercheurs.

Cependant cette première formule (formule globuleuse à deux cycles hexagonaux et deux cycles pentagonaux) ne rendait pas compte de toutes les propriétés du cholestérol et n'était pas compatible avec les données apportées par les travaux cristallographiques de BERNAL (spectre de diffraction aux rayons X) qui suggéraient l'existence d'une molécule plutôt allongée. Dès 1932, ROSENHEIM et KING en Angleterre, WIELAND et DANE en Allemagne, proposaient une nouvelle formule de constitution, dont la réalité a été prouvée par de multiples travaux : des travaux d'organiciens (obtention du carbure de Diels, obtention du chrysène à partir de l'acide cholanique, obtention du méthyl-cholanthrène à partir de l'acide désoxycholique) établissent l'existence dans la molécule du cholestérol et des acides biliaires du noyau cyclopentanoperhydrophénanthrène, squelette de base de tous ces composés dits « stéroïdes ». Cette structure se trouvait aussi confirmée par les études physiques de BERNAL. Ainsi, pendant la décade 1932-1942, assiste-t-on à un perfectionnement continu de nos connaissances. Pendant la décade suivante, 1942-1952, on cherche à élucider les détails stéréo-chimiques. Nos connaissances sont maintenant très

avancées et le cholestérol et l'acide cholique peuvent être représentés par les schémas (1) et (2).



Les traits pleins représentent les atomes ou groupements se projetant en avant du plan du noyau tétracyclique et les pointillés indiquent les atomes ou groupements se projetant en arrière du plan du noyau tétracyclique.

Notons l'orientation en β de la chaîne latérale en 17, des méthyles angulaires en 10 et 13, de même que l'orientation des atomes d'hydrogène en 8β , 9α , 14α , immuable dans tous les stéroïdes naturels. La valeur de ces schémas est entièrement démontrée par des travaux de synthèse : ex : synthèse totale du cholestanol.

On ne saurait trop insister sur l'intérêt majeur de tels travaux et sur l'importance de leurs répercussions en diverses branches de la biologie : vitamines, hydrocarbures cancérigènes, glucosides cardiotoniques, embryologie chimique (organismes cellulaires), endocrinologie.

Dans ce dernier domaine, tout spécialement, les travaux des chimistes se sont révélés particulièrement féconds. L'endocrinologie physiologique s'était déjà enrichie de solides connaissances avant 1932. La notion d'action hormonale s'était imposée, la physiologie des glandes endocrines avait été soumise à l'expérimentation et les grandes corrélations humorales commençaient à être bien connues ; certaines hormones de nature protidique avaient été isolées (insuline), la structure de la thyroxine était connue. Mais la physiologie des gonades et du cortex surrénal va se trouver renouvelée grâce à l'isolement et à la caractérisation des hormones stéroïdes.

La physiologie de la fonction ovarienne avait amplement bénéficié des travaux d'ALLEN et DOISY (frottis vaginaux : test de l'œstrus par les cellules kératinisées vaginales), d'ASCHEIM et ZONDECK (présence de corps œstrogènes dans l'urine de femme enceinte et de jument gravis, testables par la méthode d'ALLEN et DOISY). Ces travaux aboutissent

en 1929 à l'isolement, à partir de l'urine de femme enceinte, de la première hormone gonadique cristallisée, l'œstrone, obtenue séparément par DOISY et BUTENANDT ; c'est en voulant isoler l'œstrone de l'urine de jument gravis, que GIRARD met au point sa remarquable méthode d'extraction à l'aide du réactif T. A la même époque, MARRIAN isole de l'urine un autre composé, sans activité œstrogène, qu'il nomme pregnanediol. Le problème de la structure moléculaire de ces composés va très vite se trouver lié aux travaux en cours sur les stéroïdes et les acides biliaires. BERNAL, par ses travaux cristallographiques, montre une analogie de constitution entre les stéroïdes, les vitamines D, les acides biliaires, le pregnanediol, la folliculine. BUTENANDT administre la preuve chimique de l'existence du noyau cyclopentanoperhydrophénanthrène dans la molécule de pregnanediol (obtention de prégnane à partir de l'acide cholanique). COOK administre la même preuve en ce qui concerne l'œstrone (synthèse du diméthylcyclopenténophénanthrène).

BUTENANDT isole de l'urine de sujets mâles (travaux de PEZARD : test de la crête du chapon) et cristallise l'androstérone dont RUZICKA, en 1933, prouve la structure stéroïde par synthèse. En 1934, BUTENANDT isole la progestérone (travaux antérieurs de CORNER et ALLEN). En 1935, LAQUEUR isole de l'extrait testiculaire la testostérone dont la structure stéroïde a été aussi prouvée par synthèse. En 1935 également, on isole, à partir d'extrait ovarien, l'œstradiol antérieurement synthétisé au laboratoire par GIRARD et BUTENANDT, par réduction ménagée de l'œstrone.

En 1934, date à laquelle débutent les travaux modernes sur le cortex surrénal, la biochimie des stéroïdes est déjà très développée. Les recherches n'en seront que facilitées. Déjà, dès 1930, HARTMANN et BROWNELL d'une part, PEIFFNER et SWINGLE de l'autre, obtiennent des extraits cortico-surrénaux aptes à maintenir en survie des animaux surrénalectomisés. L'agent actif fut nommé « cortine » par HARTMANN et coll., terme qui devait devenir vite ambigu avec l'isolement de plusieurs composés actifs. Le test de survie de CARLAND et KUIZenga a été le premier utilisé. D'autres tests de l'activité d'extraits cortico-surrénaux ont été proposés et sont intéressants à connaître car ce sont eux qui guident les protocoles d'extraction :

- Test d'EVERSE-FREMERY : test de fatigue.
- Test de REINECKE et KENDALL : test de glycogénie hépatique.
- Test d'INGLE : récupération du muscle fatigué.
- Tests basés sur l'élimination urinaire des ions (sodium et potassium).

Des recherches très importantes, visant à l'isolement et à la caractérisation chimique des stéroïdes cortico-surrénaux, sont entreprises dès 1934 par quatre écoles de chercheurs : KENDALL, PFIFFNER, WINTERSTEINER aux U.S.A., REICHSTEIN à Zurich. Plusieurs composés cristallisés sont rapidement obtenus : PFIFFNER et VARS, MASON, MYERS et KENDALL montrent la solubilité dans l'eau des stéroïdes les plus oxygénés (4 et 5 atomes d'oxygène). On utilise le réactif T de GIRARD séparant électivement les stéroïdes cétoniques contenus dans l'extrait lipidique neutre ; la réactivité différente vis-à-vis du réactif T de groupements cétoniques différenciant suivant leur position sur la molécule permet un fractionnement des stéroïdes cétoniques. Enfin, REICHSTEIN applique largement la chromatographie sur colonne (élution des composés dans l'ordre de leur pouvoir d'adsorption).

On est arrivé ainsi à isoler une trentaine de composés cristallisés dont on a déterminé la structure : d'emblée ces corps ont été rattachés à la chimie des stéroïdes. Leur formule brute suggérerait la structure stéroïde, les études cristallographiques confirmant le fait. La preuve définitive de l'existence dans ces molécules du noyau cyclopentanoperhydrophénanthrène a été apportée par les chimistes : obtention de l'androstane à partir du composé C de KENDALL ; obtention de l'alloprégnane à partir de la corticostérone ; synthèse de la désoxycorticostérone à partir du cholestérol ou du sigmastérol ; synthèse de la cortisone, aujourd'hui industrielle, à partir de l'acide désoxycholique. Ainsi les corticostéroïdes possèdent les mêmes caractéristiques stéréochimiques et structurales que stérols, acides biliaires, et hormones sexuelles, déjà connus. Comme on le voit sur le tableau (page 17), la diversité des stéroïdes corticosurrénaux est grande. A côté de stéroïdes apparemment spécifiques, inconnus jusqu'alors, dérivant généralement du noyau alloprégnane (C21), on retrouve des stéroïdes déjà isolés à partir des gonades : soit dérivés du prégnane, en C21 (progestérone), soit dérivés de l'androstane en C19 (androgènes), soit même œstrogènes (C18). Ce n'est pas une des moindres caractéristiques, en effet, du tissu corticosurrénal que de pouvoir synthétiser à côté de stéroïdes, apparemment spécifiques, d'autres stéroïdes, lutéoïdes, œstrogènes, androgènes.

Parmi toute cette gamme de stéroïdes, sept composés possèdent les propriétés physiologiques spécifiques du cortex surrénal étudiées par les tests appropriés. Six d'entre eux ont été isolés entre 1934 et 1938 ; ce sont :

— La désoxycorticostérone (D.O.C.), comp. Q. de REICHSTEIN.

— la 17-hydroxydésoxycorticostérone (ou 11-désoxycortisone), comp. S. de REICHSTEIN.

TABLEAU DES STÉROÏDES CORTICO-SURRENAUX EMPRUNTÉ A J. SCHWARTZ

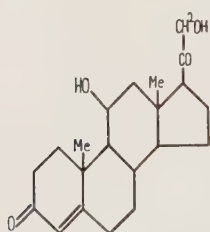
Série	Structure	Nom usuel	Désignation (1) R K W	Point de fusion du stéroïde non estérifié
C ₂₁ O ₃ C ₂₁ O ₄ a) 11-désoxy- stéroïdes b) 11-oxycor- tisté- roïdes	Alloprégnane-3 β ,11 β ,17 α ,20,21-pentol	—	A D A	221 — 222
	Alloprégnane-3 β ,11 β ,17 α ,21-tétol-20-one	—	V — —	220 — 225
	Alloprégnane-3 α ,11 β ,17 α ,21-tétol-20-one	—	C C D	273 — 276
	Alloprégnane-3 β ,17 α ,21-triol-11,20-dione	—	D G B	238 — 242
	Δ 4-prégnène-11 β ,17 α ,20,21-tétrole-3-one	—	E — —	125 (hydrate)
	Δ 4-prégnène-17 α ,20,21-triol-3,11-dione	—	U — —	308
	Δ 4-prégnène-11 β ,17 α ,21-triol-3,20-dione	17-hydroxycorticostérone	M F —	207 — 210
	Δ 4-prégnène-17 α ,21-diol-3,11,20-trione	17-hydroxy-11-déhydro- corticostérone	Fa E F	215
	Alloprégnane-3 β ,17 α ,20 β ,21-tétol	—	K — —	198 — 200
	Alloprégnane-3 β ,17 α ,21-triol-20-one	—	P — —	230 — 239
C ₂₁ O ₃	Δ 4-prégnène-17 α ,21-dio-3,20-dione	—	S — —	213
	Alloprégnane-3 β ,11 β ,21-triol-30-one	—	R — —	202 — 204
	Alloprégnane-3 β ,21-diol-11,20-dione	—	N H —	189 — 191
	Δ 4-prégnène-20,21-diol-3,11-dione	—	T — —	environ 210
	Δ 4-prégnène-11 β ,21-diol-3,20-dione	Corticostérone	H B —	180 — 182
	Δ 4-prégnène-21-ol-3,11,20-trione	11-déhydrocorticostérone	— A —	178 — 180
	Alloprégnane-3 β ,17 α ,20 β -triol	—	J — —	216 — 217
	Alloprégnane-3 β ,17 α ,20 α -triol	—	O — —	222 — 223
	Alloprégnane-3 β ,17 α -diol-20-one	—	L — G	264
	Δ 4-prégnène-17 α -ol-3,20-dione	17 α -hydroxy-progestérone	— — —	222 — 223
C ₂₁ O ₂ C ₁₉ O ₃ C ₁₉ O ₂ C ₁₈ O ₂	Δ 4-prégnène-21-ol-3,20-dione	Désoxycorticostérone	Q — —	141 — 142
	Alloprégnane-3 β -ol-20-one	Progesterone	— — —	194
	Δ 4-prégnène-3,20-dione	—	— — —	120 — 129
	Androstane-3 β ,11 β -diol-17-one	—	— — —	234 — 235
	Δ 4-androstène-3,11,17-trione	Andréonostérone	G — —	223 — 224
C ₁₉ O ₂ C ₁₈ O ₂	Δ 4-androstène-3,17-dione	—	— — —	173 — 174
	Δ 1,3,5:10- α -estratriène-3-ol-17-one	Œstrone	— — —	255

(1) R : REICHSTEIN — K : KENDALL — W : WINTERSTEINER.

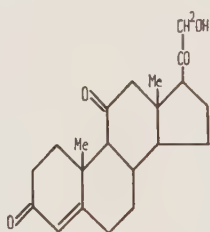
- La corticostérone, com. B. de KENDALL.
- La 11-déhydrocorticostérone, comp. A. de KENDALL.
- La 17-hydroxycorticostérone (ou hydrocortisone ou encore cortisol), comp. F. de KENDALL.
- La 17-hydroxy-11-déhydrocorticostérone (ou cortisone), comp. E. de KENDALL.

Le septième corticostéroïde actif a été isolé en 1953 (WETTSTEIN et REICHSTEIN) ; il s'agit de :

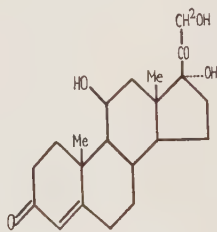
— L'aldostérone (ou électrocortine) (11 β ,21-dihydroxy-3,20-dicéto- Δ^4 pregnène-18 al).



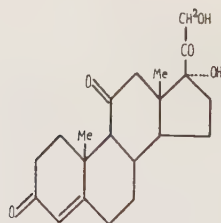
Corticostérone



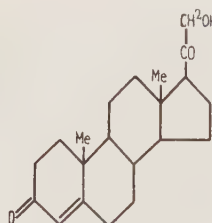
11-déhydro-corticostérone



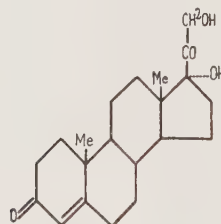
17-hydroxy-corticostérone



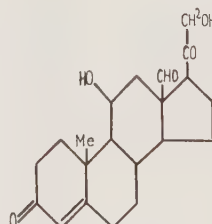
17-hydroxy-11-déhydrocorticostérone



11-désoxycorticostérone



17-hydroxy-désoxycorticostérone



Aldostérone

Stéroïdes cortico-surrénaux actifs

Structure et activité

Soulignons d'emblée l'étroite spécificité structurale à laquelle semble assujettie toute activité hormonale cortico-surrénale. Les corticostéroïdes actifs dérivent, comme on l'a vu, du noyau allopregnane, première condition nécessaire. La molécule douée d'action biologique doit affecter une forme bien définie pour pouvoir en somme se mouler sur le récepteur biologique adéquat. Notons le caractère indispensable du squelette cyclopentanoperhydrophénanthrène ; la seule suppression du méthyl angulaire en 10 entraîne une inactivation (la 10-nor-D.O.C. est considérablement moins active que la D.O.C.) ; cependant une désaturation dans le noyau C n'affecte pas l'activité hormonale ou même l'augmente paradoxalement : la Δ^9 -11-D.O.C. et la Δ -11-D.O.C. ont respectivement une activité égale à celle de la D.O.C. et triple de celle de la D.O.C., mesurée par le test de survie. Cette notion de spécificité structurale sur laquelle on a déjà abondamment discuté, n'a aucun caractère de généralité en matière d'hormones stéroïdes. On n'a affaire qu'à des cas d'espèce. Ainsi par exemple la Δ 11-progesterone a une activité lutéinique trois fois supérieure à celle de la progesterone (phénomène semblable pour la Δ 11-D.O.C.) ; la 10-nor-progesterone (perte du méthyl en 10) a une activité lutéinique égale sinon supérieure à celle de la progesterone (phénomène inverse pour la 10-nor-D.O.C.). D'autre part, nous savons que les oestrogènes de synthèse hautement actifs ne conservent même pas intégralement le noyau cyclopenténophénanthrène (cycles potentiels).

Pour les stéroïdes corticosurrénaux, trois caractéristiques structurales paraissent essentielles pour une haute activité biologique, qu'elle soit testée par la survie de l'animal surrénalectomisé, par l'élimination urinaire des ions Na et K, par l'activité glycogénique :

— la présence d'un groupement cétone $\alpha\beta$ non saturé dans le noyau A (one-3- Δ^4) ;

— la présence d'une chaîne latérale cétole fixée en 17 et orientée en β ;

— la présence d'un groupement oxygéné en C11.

GROUPEMENT ONE-3= Δ 4 DU NOYAU A

Ce groupement existant dans les sept composés actifs est essentiel pour l'activité hormonale. SHOPPEE imagine qu'une modification du système électronique du groupement



résonnant pourrait conduire à la formation d'un centre cationique. Les ions carbénium induits peuvent être impliqués dans l'évocation des phénomènes biologiques. Tout traitement altérant le système résonnant, se traduit par une diminution sensible d'activité : ainsi l'acétate de désoxycorticostérone (D.O.C.A.) se trouve inactivé par réduction catalytique de la double liaison en 4-5 ; la corticostérone, la 11-déhydrocorticostérone, ne possèdent plus que le 1/150^e de leur activité après le même traitement. La réduction du CO ($\longrightarrow$ CHOH) en 3 entraîne aussi une perte d'activité.

Une désaturation, une substitution dans le noyau B influencent le système résonnant avec perte de l'activité physiologique. La Δ 6-D.O.C.A. est considérablement moins active que la D.O.C.A. De même la 6 α -acétoxy-D.O.C.A. est



dix à vingt fois moins active que la D.O.C.A. Ces faits sont corroborés par ce que l'on sait de la progestérone : cette hormone est inactivée de moitié par désaturation en 6-7 ; la Δ 5-progestérone (suppression du système résonnant) est complètement inactive.



Ce groupement cétone $\alpha\beta$ non saturé du noyau A est responsable du spectre d'absorption caractéristique dans l'ultra-violet avec maximum à 230-260 $m\mu$, de tous les stéroïdes qui en sont porteurs. Cette propriété physique est consciemment mise à profit en recherche pour la détection de ces stéroïdes. La réduction de la double liaison ou du groupement cétone entraîne la disparition du spectre caractéristique.

Ce groupement donne lieu également un spectre caractéristique dans l'ultra-violet, en présence d'acide sulfurique avec maximum à 285 m μ (ZAFFARONI) et à une fluorescence dans l'ultra-violet après traitement à la soude (BUSN). Ces propriétés sont également très fréquemment appliquées en recherche.

LA CHAÎNE LATÉRALE EN 17

L' α -ketol réducteur ($-\text{CO}-\text{CH}_2\text{OH}$) en 17 est essentiel pour une activité hormonale. Encore faut-il qu'il soit orienté convenablement en β : la 17-iso-désoxycorticostérone, comme la 17-isoprogesterone (chaîne latérale en α) ne sont que peu actives.

Une chaîne latérale convenablement orientée, mais modifiée par oxydation (formation d'un α -cétal : $-\text{CO}-\text{CHO}$) ou par réduction

($-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$; $-\text{CO}-\text{CH}_3$; $-\text{CHOH}-\text{CH}_3$)

est impropre à toute activité biologique. Il y a toutefois une exception d'importance : la progesterone très voisine de la désoxycorticostérone (chaîne latérale acétyl $-\text{CO}-\text{CH}_3$, au lieu d' α -ketol possède une certaine action sur le test de survie (GAUNT-HAYS) et une certaine action minéralo-régulatrice.

Le groupement α -ketol confère à la molécule des propriétés chimiques particulières que l'on a voulu mettre à profit pour doser ces composés ou pour les révéler sur les chromatogrammes (sur papier).

— *Propriétés réductrices puissantes* : réduction du réactif cuivrique de Nelson (TALBOT) ; réduction du réactif phosphomolybdique de Folin-Wu (HEARD-SOBEL) ; réduction des sels de tétrazolium (CHEN) ; réduction de l'hydroxyde d'argent ammoniacal (ZAFFARONI).

— *Comportement particulier vis-à-vis des oxydants* : technique à l'acide périodique (DAUGHADAY, LOEWENSTEIN, CORCORAN et PAGE).

L'introduction d'un $-\text{OH}$ en 17, orienté en α diminue l'activité quant au test de survie et d'Everse-Fremery, et augmente l'activité vis-à-vis du métabolisme hydrocarboné. Cet hydroxyl influe sur les propriétés de l' α -ketol adjacent ; en fait, on a affaire à un groupement dihydroxyacétone $-\text{C}(\text{OH})-\text{CO}-\text{CH}_2\text{OH}$ présentant des propriétés réductrices diminuées par rapport à l' α -ketol et affectant un comportement différent vis-à-vis des oxydants (périodate, bismuthate). La spécificité — d'ailleurs contestée — de la réac-

tion qu'il donne avec la phénylhydrazine permet un dosage électif des corticostéroïdes 17-hydroxylés (PORTER et SILBER).

LE CARBONE 11

L'existence d'un groupement oxygéné en C 11, cétonique ou alcoolique, a longtemps été considérée comme facultative, et comme induisant simplement une modalité d'action métabolique. On a ainsi distingué :

Les « 11-oxy » (présence d'un oxygène cétonique ou alcoolique en 11), à activité maxima sur le métabolisme glucidique et protidique, encore appelé « glycocorticoïdes », « hormones protéinoglycidiqes », « hormones sucrées » (ALBRIGHT). Ce sont, dans l'ordre d'activité décroissante : la 17-hydroxycorticostérone (comp. F), la 17-hydroxy-11-déhydrocorticostérone (comp. E), la corticostérone (comp. B), la 11-déhydrocorticostérone (comp. A). Rappelons que ces stéroïdes sont responsables de la formation du glycogène hépatique chez l'animal soumis au jeûne ; en l'absence d'apport glucidique alimentaire, ce sont les protéines périphériques, hépatiques, lymphatiques, de l'individu qui font les frais de la gluco-néogénèse ; certains acides aminés, dits glycogéniques, sont après désamination oxydative transformés en acide pyruvique et intégrés à l'anabolisme hydrocarboné.

— Les « 11-desoxy » (absence d'oxygène en 11) à activité maxima sur l'élimination urinaire des minéraux, encore appelés « minéralocorticoïdes », « hormones minéralo-régulatrices ». Ces composés favorisent l'élimination urinaire du potassium et favorisent la rétention du sodium. Ils entraînent également un certain degré de rétention hydrique.

Avant 1953, deux minéralocorticoïdes actifs étaient connus, la désoxycorticostérone (D.O.C.) de loin la plus active ; la 17-hydroxy-désoxycorticostérone (comp. S).

Actuellement, si l'on peut encore parler de glyco et de minéralocorticoïdes, il n'est plus question de symboliser cette distinction physiologique par un critère aussi simple que l'absence ou la présence d'un oxygène en C 11. En effet, la détermination de la structure, en 1954, de l'aldo-stérone obtenue cristallisée, à partir du tissu corticosurrénal, en 1953 (REICHSTEIN), sous le nom provisoire d'électro-cortine, a révélé que ce minéralocorticoïde extrêmement actif (50 à 100 fois plus que la D.O.C.A.) est un composé 11-hydroxy ; ainsi l'existence d'un hydroxyl en 11- β (l'épimérisation équivaut là encore à une inactivation) semble être une condition indis-

pensable pour une activité maxima, tant sur le métabolisme glucidique et protidique (comp. F) que sur le métabolisme des électrolytes (aldostérone).

Il est curieux de constater que DOUGHERTY attribue à ce groupement 11-hydroxy une part de l'activité antiphlogistique de l'hydrocortisone, de la cortisone, de la corticostérone. Le comp. S (11-désoxycortisone) exercerait également une activité anti-inflammatoire après transformation interne en comp. F. DOUGHERTY attribue un caractère de nécessité aux groupements suivants : one-3- Δ 4 ; 11-hydroxy ; 17-hydroxy (avec activité anti-inflammatoire maxima si ces deux derniers sont associés). Le cas de l'aldostérone obligera probablement à reconsidérer ces notions.

CHAPITRE II

Activité métabolique des stéroïdes cortico-surrénaux

Nous avons vu précédemment qu'il est désormais impossible de différencier sur un détail de structure chimique les hormones glyco et minéralo-régulatrices. En fait, cette notion opposant composés 11-oxy et 11-désoxy cristallisait de façon trop absolue une dualité d'action, sur le plan métabolique, que l'on voulait franchement dissocier : d'un côté on avait les 11-oxy glyco-régulateurs (chef de file : comp. F) de l'autre les 11-désoxy minéralo-régulateurs (chef de file : D.O.C.A.). Or, avec la connaissance de l'aldostérone, nous savons qu'il faut renoncer définitivement à la distinction entre 11-oxy et 11-désoxy, puisque l'hydroxyl en 11, loin d'être facultatif, apparaît comme une condition nécessaire pour une activité maxima tant sur le métabolisme glucidique et protidique (comp. F) que sur le métabolisme des minéraux (aldostérone) : donc tous les composés les plus actifs représentant vraisemblablement les vraies hormones, comme nous le verrons, qu'ils soient glyco ou minéralo-corticoïdes, sont obligatoirement 11-hydroxy.

Il est curieux par ailleurs d'examiner quelles fortunes diverses a connues, sur le plan physiologique pur, la classification entre hormones protéino-glucidiques et hormones minéralo-régulatrices. Celle-ci est devenue depuis longtemps classique, depuis les travaux de LOEB sur la désoxycorticostérone et son action sur le métabolisme minéral, et les travaux plus récents (VENNING, LONG, KATZIN, FRY) sur les « 11-oxy » et leur action sur le métabolisme des glucides et des protéines. Or, cette distinction entre minéralo et glyco-corticoïdes, si elle rend compte d'un certain nombre de faits expérimentaux et cliniques, n'est qu'un schéma commode dont certaines notions ne s'accommodent pas. Il est plus rai-

sonnable de distinguer, non pas deux types différents d'hormones, mais bien deux types d'action pharmacodynamique, l'un concernant le métabolisme minéral, l'autre le métabolisme glucidique, tous deux imputables, mais à des degrés inégaux, à n'importe quel corticostéroïde. Le premier cas dont nous ayons eu connaissance, à illustrer ce fait, est celui de la corticostérone ; ce composé — authentique glycocorticoïde 11-hydroxy — exerce un effet minéralo-corticoïde type D.O.C.A. certainement important puisque supérieur à celui du comp. S lui-même, authentique 11-désoxy. On peut considérer sans erreur la corticostérone comme le plus puissant des minéralo-corticoïdes, après la D.O.C.A., à un degré notablement plus faible, il est vrai, en tous cas nettement plus puissant (jusqu'à deux fois plus) que le comp. S. « La corticostérone semble devoir être employée en cas d'insuffisance surrénale ; son exemple montre que l'on peut parler tout au plus de fonctions et non d'hormones minéralo-régulatrices et protéino-glucidiques ; la corticostérone a les deux ordres de propriétés » (SCHWARTZ).

L'exemple bien plus actuel de l'aldostérone vient corroborer ce fait. Nous étudierons plus loin l'activité minéralo-régulatrice de ce composé, laquelle est de très loin la plus importante que l'on connaisse à ce jour. Mais l'expérimentation a montré que ce corps a aussi une fonction protéino-glucidique non négligeable. SCHULER, DESAULLES et MEIER étudient le comportement de l'électrocortine vis-à-vis du glycogène-test de VENNING, KAZMIN et BELL (sur la souris surrénalectomisée). Comparant avec l'activité d'autres stéroïdes, ces chercheurs trouvent les résultats suivants, correspondant aux doses respectives pour lesquelles une augmentation de 200 % du glycogène hépatique est obtenue par rapport au témoin (E.D. 200).

<i>Traitement</i>	<i>Nombre d'animaux</i>	<i>E.D. 200</i>	
		<i>Dose qui augmente de 200 % la teneur en glycogène du foie</i>	
Cortisone (libre)	30	30	gamma/animal
Corticostérone (libre)	30	60	» »
Electrocortine	5	100	» »
Désoxycorticostérone (libre)	30	3000	» »

On voit que l'activité protéino-glucidique de l'électrocortine, environ 30 fois supérieure à celle de la désoxycorticostérone, est de l'ordre de l'activité de la corticostérone et un peu inférieure à celle de la cortisone.

D'autre part, un certain effet hyperglycémiant de l'électrocortine, constatable chez des insuffisants surrénaux traités par ce médicament (MACH et FABRE) apporte la preuve clinique de cette fonction protéino-glucidique.

FONCTION PROTÉINO-GLUCIDIQUE DES CORTICOSTÉROÏDES

« Chez un sujet recevant une nourriture équilibrée et ne subissant aucune agression traumatique ou toxi-infectieuse, l'insuline assure la répartition des hydrates de carbone alimentaires et l'hypophyse entretient une néoglucogénèse suffisante. Les protéines sont dégradées par le corps thyroïde et anabolisées par l'hormone somatotrope de l'hypophyse. C'est encore l'hypophyse qui joue le rôle essentiel dans le métabolisme des graisses. Une vie normale paraît donc possible en l'absence de stéroïdes organiques de la cortico-surrénale.

« Mais que l'apport hydro-carboné se réduise par insuffisance d'apport (jeûne), non utilisation (diabète) ou dépenses excessives (effort, froid), la néoglucogénèse hypophysaire devient insuffisante, car si l'hypophyse porte le glycogène dans le muscle, c'est seulement la cortico-surrénale qui le fixe dans le foie.

« Cet extra-glucose des périodes difficiles a pour origine les protéines tissulaires et plus spécialement les protéines lymphatiques et hépatiques. Les 11-corticostéroïdes ont le pouvoir non seulement d'opérer des prélèvements protéiques, mais de transformer les protéines tissulaires en acides aminés, puis de désaminer ces acides aminés, enfin de transformer les radicaux carbonés issus de la désamination en acide pyruvique. Ce sont encore les 11-corticostéroïdes qui resynthétisent l'acide pyruvique en glycogène hépatique. La destinée des 11-corticostéroïdes est donc d'empêcher que le foie puisse manquer de glycogène, ce qui se produirait nécessairement, quand l'organisme est privé soit d'hydrates de carbone, soit d'insuline, pour fixer ces hydrates de carbone dans le foie » (LICHTWITZ) ».

Ainsi peut être résumée la conception actuelle de la physiologie de la fonction protéino-glucidique. Nous avons fait ce rappel car il permet de comprendre le principe du glycogén-test de REINECKE et KENDALL, de VENNING mis à profit pour doser biologiquement les glycocorticoïdes dans les humeurs : ce test mesure l'activité glycocorticoïde d'une substance ou d'un extrait en dosant le glycogène qui se fixe dans le foie

chez un animal surrénalectomisé et soumis au jeûne, après injection de cette substance ou de cet extrait.

Cependant, nous savons que derrière ce vocable d'hormones protéino-glucidiques se cache une grande diversité d'actions pharmacodynamiques. Parmi celles-ci, nous mentionnerons les effets hématologiques en particulier sur les éosinophiles sanguins : l'effet éosinopénique propre à ce type de composés a été utilisé par THORN comme méthode d'examen de la réactivité surrénale à la stimulation hypophysaire par l'A.C.T.H. ; sur ce même effet, ont été fondées des méthodes de dosage biologique des « 11-oxystéroïdes » dans l'urine (SPEIRS, COSTE) et même dans le sang (ROSENBERG). L'expérimentation de ces composés dans des domaines nombreux et variés a révélé la « complexité ubiquitaire de leurs manifestations ». Les stéroïdes hormonaux sont « des hormones tissulaires à actions multiples s'insérant dans tous les mécanismes fondamentaux ». « La multiplicité de leurs actions (une étude systématique montrerait vraisemblablement qu'aucun domaine n'est indépendant de leurs influences) plutôt que de préciser nos hypothèses accroît notre embarras » (SCHWARTZ).

FONCTION MINÉRALORÉGULATRICE DES CORTICOSTÉROÏDES

Nous allons voir la diversité des interprétations que l'on a données au rôle respectif des différents cortico-stéroïdes dans ce domaine.

Avant l'aldostérone, c'était la désoxycorticostérone qui représentait le minéralocorticoïde type ; son action sur le métabolisme minéral, la plus anciennement connue (LOEB), apparaissait de loin comme la plus importante ; d'autre part, d'un point de vue qualitatif, le schéma des modifications déterminées dans le métabolisme minéral par ce composé, définissait la fonction minéralocorticoïde type.

On peut ainsi résumer l'action de la désoxycorticostérone (action qui s'exerce avant tout par un mécanisme rénal):

- Favorise la rétention du sodium (réabsorption tubulaire).

- Favorise l'excrétion urinaire du potassium.

- Entraîne une rétention aqueuse, une augmentation du volume plasmatique et des liquides extra-cellulaires ; mais là il faut une dose beaucoup plus élevée que celle nécessaire à la rétention de sodium ; il est vraisemblable que les phénomènes de rétention sodique et de rétention hydrique sont en fait dissociés.

Tout le monde est d'accord sur ce schéma, en particulier l'effet sodium-retenant, qui est la définition même d'une action « D.O.C.A.-like ».

Cependant, on s'est aperçu que la D.O.C.A. n'avait pas l'exclusivité de toute fonction minéralo-régulatrice. Les « 11-oxy » semblaient avoir une certaine part dans la régulation de l'élimination urinaire des électrolytes — avec une efficacité certainement moindre, nécessitant des doses plus fortes : en fait, l'expérimentation isolée des différents 11-oxy-stéroïdes cristallisés a fait apparaître de façon indéniable leur action pharmacodynamique sur l'élimination rénale des minéraux.

Il n'a pas été facile de s'entendre sur le sens de cette action pharmacodynamique. En schématisant, on peut dégager deux tendances :

— Première tendance : Les 11-oxy-stéroïdes exercent une action minérale quantitativement et qualitativement différente de celle de la D.O.C.A., au moins quant à l'élimination du sodium : ils favorisent l'excrétion du sodium ; ils sont dans une certaine mesure des « antagonistes » de la D.O.C.A. (cette notion d'antagonisme entre différents stéroïdes cortico-surrénaux a, en réalité, reçu ailleurs son plein développement avec SELYE dans le domaine du syndrome et des maladies de l'adaptation).

Comment peut-on déterminer qualitativement et quantitativement une action minéralo-corticoïde ? Un certain nombre de méthodes biologiques mesurent l'influence de tel stéroïde en mesurant la quantité totale de sodium urinaire (et de potassium urinaire) éliminée pendant un temps déterminé, comparée avec l'élimination témoin : tel est le principe de tests biologiques reposant sur l'appréciation séparée du sodium total et du potassium total dans l'urine, après administration du médicament ou non.

En général, la méthode suivie est la suivante : on se sert d'animaux (souris ou rats) surrénalectomisés de un à quelques jours avant le test : dans l'intervalle entre opération et test, les animaux sont nourris avec un régime standard et boivent une solution saline physiologique (DEMYC, LUETSCHER, SINGER-VENNING) ou n'ont droit qu'à la solution saline (MARCUS, ROMANOFF, PINCUS) ; KAGAWA, qui utilise ses rats pour le test 24 heures après surrénalectomie, ne leur fait rien absorber dans l'intervalle ; en général, 24 heures avant le test, toute nourriture et tout apport alimentaire de sel sont supprimés ; les animaux peuvent encore boire de l'eau distillée.

Conduite du test : toute boisson est supprimée ; le sel (et l'eau) sont administrés en quantités connues par injection

sous-cutanée ou intra-péritonéale. A un moment déterminé, on injecte aux animaux-tests, par voie sous-cutanée, une quantité donnée de solution contenant la substance à tester — la nature du solvant a elle-même son importance. Les animaux témoins reçoivent la même quantité de solvant pur. A partir de ce moment, on recueille l'urine de tous les animaux tests et témoins pendant une durée également bien déterminée. C'est dans cette urine que seront faits les dosages du sodium et du potassium. Sur ce point, chaque méthode possède quelque artifice propre.

DEMING et LIETSCHER n'utilisent pas d'animaux-témoins; ce sont les mêmes lots d'animaux qui servent de témoins le premier jour de l'expérience (administration intra-péritonéale d'eau et de sérum physiologique, sans injection médicamenteuse : donne l'élimination hydrique et sodique contrôle), et qui servent de test le deuxième jour (administration intra-péritonéale de sérum physiologique et d'eau, et injection sous-cutanée du stéroïde à essayer : le rapport de l'élimination du sodium du jour-contrôle à celle du jour-test mesure l'activité du stéroïde essayé). Le recueil de l'urine est effectué à l'aide de cages à métabolisme individuelles et le sodium total est mesuré au moyen du photomètre à flamme. Une technique de ce genre est suivie par MARCUS, ROMANOFF et PINCUS.

SINGER et VENNING font une injection sous-cutanée du stéroïde à tester ou du solvant seul et une injection sous-cutanée de chlorure de sodium, contenant du sodium traceur (Na^{24}). Les animaux sont remis dans leurs cages après avoir subi une ligature de l'urètre. Cinq heures après l'injection de chlorure de sodium marqué, les animaux sont sacrifiés et éviscérés. L'urine est recueillie par ponction de la vessie, à abdomen ouvert, à l'aide d'une fine aiguille et d'une seringue : on rince soigneusement cette vessie et on recueille les liquides de rinçage que l'on ajoute à l'urine. La détermination du radiosodium s'effectue à partir de prises d'essai séchées sous lampe à rayons infra-rouges, à l'aide du compteur de GEIGER-MÜLLER (technique antérieurement proposée par DORFMANN).

KAGAWA utilise une méthode assez voisine de celle de SINGER et VENNING quant au recueil de l'urine de ces animaux, mais fait la détermination du sodium à l'aide d'une technique micro-chimique.

Toutes ces méthodes biologiques nécessitent un certain nombre de précautions pour faire la part des variations individuelles et permettre des résultats reproductibles (emploi de lots d'animaux importants, traitement pré et post-opératoire, référence rigoureuse et journalière aux témoins).

Les conclusions générales des auteurs font ressortir une certaine complexité des faits.

Dans tous les cas, la D.O.C.A. exerce son action minéralo-régulatrice type, qualitativement constante sur toute la gamme de doses administrées, et directement proportionnelle à la dose administrée : ainsi, d'après MARCUS, ROMANOFF, PINCUS, l'effet sodium-retenant de la D.O.C.A. est donné par la relation $y = 1,601 - 0,720 x$ (y représente l'élimination totale du sodium en mg./heure/100 gr. de poids d'animal ; x représente le log. de la dose de substance injectée) figurée par une droite régulièrement descendante ; l'effet potassium-excrétant est donné par la relation $y = 1,251 + 0,195 x$ figurée par une droite régulièrement ascendante.

SINGER et VENNING trouvent également une fonction linéaire entre la rétention sodique et le logarithme de la dose de D.O.C.A. injectée.

Seul l'extrait lipidique corticosurrénal total possède une action qualitativement analogue à celle de la D.O.C.A. ; il induit, lui aussi, à faible comme à haute concentration, une rétention sodique (D.O.C.A.-like) mais avec une moindre activité (différence simplement quantitative). On note également un effet constant mais moins marqué que pour la D.O.C.A. d'excrétion du potassium. Cependant, l'extrait surrénal se comporte différemment de la D.O.C.A. vis-à-vis du métabolisme de l'eau : anti-diurétique (rétention aqueuse) aux plus faibles doses — action D.O.C.A.-like —, il est au contraire diurétique aux fortes doses (équivalent à 500 gammas de cortisone).

En revanche, les 11-oxy-stéroïdes (17-hydroxycorticostérone, cortisone, corticostérone, 11-déhydrocorticostérone) diffèrent avant tout qualitativement de la D.O.C.A.

D'après SINGER et VENNING, la cortisone favorise l'excrétion du sodium ; cette action semble grossièrement proportionnelle à la dose. Elle favorise aussi — peut-être à un degré plus élevé — la fuite du potassium urinaire.

MARCUS, ROMANOFF et PINCUS, étudiant l'action des quatre 11-oxy-stéroïdes déjà nommées ci-dessus et de la $\Delta 5$ -prégnénolone, constatent qu'aux plus faibles doses (10 gammas) tous ces stéroïdes causent une rétention du sodium et une diminution de la diurèse. Cet effet, apparemment D.O.C.A.-like, s'inverse très rapidement à mesure que l'on augmente la dose. A haute dose, toutes ces substances facilitent l'excrétion sodique et hydrique, la corticostérone et la cortisone semblant les plus actives en ce sens.

Quant à l'élimination du potassium, elle paraît favorisée par toutes ces substances (sauf $\Delta 5$ -prégnénolone inactive), pour toutes les doses, mais à des degrés d'activité variables.

Ainsi, en résumé, on peut constater qu'il n'y a en général aucune ambiguïté quant à l'élimination du potassium :

toutes les substances essayées (D.O.C.A., extrait cortico-surrénal total, 11-oxy-stéroïdes) ont un effet potassium-excrétant variable suivant l'activité respective de chaque substance.

Quant aux conditions d'élimination rénale du sodium et de l'eau, plusieurs éventualités peuvent se voir. Nous retiendrons :

— L'effet sodium-retenant et l'effet antidiurétique de la D.O.C.A. ; l'effet sodium-retenant de l'extrait corticosurrénal total (effet variable suivant la dose sur l'élimination de l'eau).

— L'effet sodium-excrétant et l'effet diurétique — au moins pour des doses suffisamment fortes — des composés 11-oxy ; ainsi théoriquement le groupement oxygéné en 11 non seulement pouvait paraître indispensable pour une activité protéino-glucidique appréciable, mais encore semblait inverser l'action sur l'élimination urinaire des électrolytes par rapport à l'action minéralo-corticoïde type de la désoxy-corticostérone. C'était une raison de plus de se confirmer dans l'impression que composés 11-oxy et 11 désoxy avaient toutes les raisons d'être séparés, voire opposés sur le plan métabolique.

— Cependant, et c'est là la deuxième tendance, d'autres pensent qu'il n'y a qu'un seul type d'effets minéralocorticoïde, qualitativement identique à celui de la D.O.C.A. (sodium-retenant et potassium-excrétant), variable seulement quantitativement. Ce point de vue prendra même une tournure et une importance toute particulières quand on sera amené à discuter l'existence d'une sécrétion interne minéralo-corticoïde, du cortex surrénal. L'existence même des concepts de minéralo et de glycocorticoïdes sera remise en question et seule la connaissance de l'aldostérone permettra de clarifier le débat.

SIMPSON et TAIT testent l'activité minéralo-régulatrice d'un stéroïde suivant une méthode biologique basée non sur l'évaluation séparée du sodium total et du potassium total urinaires, mais sur l'évaluation du rapport de l'élimination du sodium à l'élimination du potassium (Na/K). Le test biologique de SIMPSON et TAIT est ainsi conduit : administration sous-cutanée à des rats surrénalectomisés d'une solution aqueuse de chlorure de sodium marqué (Na^{24}) et de chlorure de potassium marqué (K^{42}). Une heure auparavant a été pratiquée une injection sous-cutanée de préparation hormonale dont l'activité est appréciée en mesurant dans l'urine recueillie, deux heures après l'administration des sels marqués, le rapport $\text{Na}^{24}/\text{K}^{42}$ (emploi du compteur de GEIGER-

MULLER). Les auteurs constatent que la D.O.C.A. diminue le rapport Na/K urinaire mesuré par cette technique ; l'abaissement du rapport (rétention de sodium, excrétion de potassium) est proportionnel au logarithme de la dose de D.O.C.A. injectée, suivant une fonction linéaire. Les auteurs constatent de plus que l'extrait cortico-surrénal total et même tous les différents corticostéroïdes ont le même effet qualitatif sur le rapport $\text{Na}^{24}/\text{K}^{42}$ urinaire : comme la D.O.C.A. ils abaissent ce rapport ; il est possible cependant que, suivant les cas, ce soit le numérateur ou le dénominateur qui soit le plus influencé ; SINGER et VENNING discutant l'action de la cortisone sur l'élimination urinaire totale du sodium et du potassium comparent leurs propres résultats à ceux de SIMPSON et TAIT : l'effet d'excrétion du sodium propre à la cortisone pourrait être corrigé et au-delà par une élimination très accrue de potassium, d'où un abaissement du rapport Na/K urinaire. De toutes façons, SIMPSON et TAIT remarquent la même relation linéaire entre l'abaissement du rapport $\text{Na}^{24}/\text{K}^{42}$ et le logarithme de la dose de corticostéroïde injectée : il s'agit de droites ayant toutes même pente que celle de la D.O.C.A., donc parallèles. Seule l'intensité d'action distingue les différents corticostéroïdes.

Comparaison de l'activité des différents stéroïdes mesurée par l'abaissement du rapport $\text{Na}^{24}/\text{K}^{42}$ urinaire, le test de survie, le test d'EVERSE-FREMERY, en termes de D.O.C.A. (activité = 100), (d'après SIMPSON et TAIT).

	Rapport $\text{Na}^{24}/\text{K}^{42}$	Test d'EVERSE- FREMERY	Survie
D.O.C.	135	—	—
D.O.C.A.	100	100	100
Comp. B	14,3	7 à 9	17
Comp. S	7,99	7	—
Comp. F	7,58	3,5 à 4	3 à 6
Comp. A	—	—	—
Acétate de comp. A	6,74	—	—
Acétate de comp. E	5,16	—	—
Comp. E	5,91	3,5	3 à 6
Extrait surrénal	1 ml = 150,5 D.O.C.A.	—	1 ml = 60 à 200 D.O.C.A.

(on remarquera l'activité relativement importante de la corticostérone sur le rapport $\text{Na}^{24}/\text{K}^{42}$ et sur le temps de survie).

Or, la mesure du rapport Na/K serait celle qui rendrait le mieux compte du métabolisme de ces minéraux (plutôt

que l'estimation séparée des deux). Le parallélisme des résultats de SIMPSON et TAIT, du test de survie et du test d'EVERSE-FREMERY est frappant. On sait que l'action prédominante des corticostéroïdes sur la survie de l'animal surrénalectomisé, maintenu avec un régime salé normal et à l'abri de tout stress, porte essentiellement sur le métabolisme minéral. Ceci a été démontré par la majoration notable du temps de survie chez l'animal traité uniquement par le régime hyper salé et par l'incapacité du glucose à donner le même résultat. De même, le test d'EVERSE-FREMERY rend également compte d'une action minéralorégulatrice.

Ainsi le travail et les conclusions de SIMPSON et TAIT font apparaître un type qualitativement unique de fonction minéralo-régulatrice chez tous les corticostéroïdes. Seule, leur haute activité différencie en propre les authentiques minéralo-corticoïdes. Or, la notion que des composés type 11-oxy peuvent exercer — fût-ce avec une moindre activité — un effet minéralo-régulateur, somme toute D.O.C.A. like, a pris une signification tout à fait particulière quand on a envisagé le problème de la nature de la sécrétion interne corticosurrénale (voir page 42).

CHAPITRE III

Le problème de la sécrétion interne cortico-surrénale

Cortico-stéroïdes sanguins

LA SÉCRÉTION INTERNE DE GLYCOCORTICOIDES

Cette question est d'un grand intérêt, non seulement pour la compréhension de la physiologie générale de la corticosurrénale, mais également du point de vue pratique en ce qui concerne l'application clinique. A un moment où l'on voudrait disposer de méthodes pratiques de dosage des corticostéroïdes dans le sang, il serait avantageux de connaître, ne serait-ce que partiellement, ce que l'on prétend et ce que l'on doit doser. De plus, la connaissance des corticostéroïdes sanguins peut apporter d'utiles indications quant à la nature probable des corticoïdes urinaires, tout au moins de certains d'entre eux : jusqu'à maintenant, les principes des méthodes de dosage en matière de corticoïdes urinaires n'ont été fondés que sur des présomptions.

Des travaux récents ont apporté certaine lumière sur la nature des corticostéroïdes sanguins. Effectués à l'aide de techniques d'extraction, de fractionnement, de caractérisation, finement sélectives, ils s'adressent directement au sang veineux surrénal ou au sang périphérique, méthode la plus immédiate mais aussi d'exécution la plus délicate. Certains corticostéroïdes doués d'une haute activité métabolique et décelés dans le sang en quantités significatives, représentent vraisemblablement des hormones du cortex surrénal.

PASCUKIS et coll. avaient montré la présence de composés à activité glucocorticoïde dans le sang veineux surrénal

et le sang artériel périphérique à l'aide du test biologique de VENNING, KAZMIN et BELL (déposition du glycogène hépatique chez la souris surrénalectomisée). Ces auteurs chiffrent cette activité glucocorticoïde, équivalant à des concentrations de 14 à 50 gammas de 11-déhydrocorticostérone par ml. de sang.

On a vu que quatre composés à activité glucocorticoïde maxima ont été extraits du cortex. On pouvait tabler a priori sur la sécrétion interne de ces quatre composés. En fait, deux seulement ont été décelés dans le sang veineux surrénal et dans le sang périphérique en quantité significative et de façon pratiquement constante : ce sont la 17-hydroxycorticostérone et la corticostérone.

Dès 1950, REICH, NELSON, ZAFFARONI isolent du sang de la veine surrénale gauche de chiens héparinés, anesthésiés et ayant reçu une injection d'A.C.T.H., la 17-hydroxycorticostérone après extraction du sang laqué à l'éther, séparation hexane-éthanol, séparation hexane-méthanol, séparation de GIRARD et chromatographie sur alumine de la fraction cétonique. C'est à partir d'une des fractions de ce chromatogramme que sont obtenus des cristaux de 17-hydroxycorticostérone, caractérisés par leur point de fusion, leur point de fusion mélangé, leur fluorescence verte dans l'acide sulfurique (caractéristique du 11-hydroxyl du comp. F), leur spectre ultra-violet (absorption à $240\text{ m}\mu$). De plus, le composé obtenu par les auteurs a le même comportement que le comp. F quant au chromatogramme sur papier (même « running rate » que le témoin). Effectuant une chromatographie sur papier de certaines fractions du chromatogramme sur alumine, REICH, NELSON et ZAFFARONI décèlent la présence de corticostérone : même « running rate » que le comp. B témoin ; spectre ultra-violet ($240\text{ m}\mu$), spectre ultra-violet dans l'acide sulfurique ($285\text{ m}\mu$) ; obtention d'un composé présentant les propriétés de la 11-déhydrocorticostérone, par oxydation chromique ménagée.

SAVARD et coll. cherchent à extraire les corticostéroïdes contenus dans des dialysats obtenus à partir de chiens néphrectomisés, en utilisant soit le rein artificiel, soit le lavage péritonéal. Ils constatent que ces corticostéroïdes se trouvent sous deux formes : une forme libre extraite directement par les solvants des lipides ; une forme conjuguée (complexe glycuronique) très soluble dans l'eau, susceptible d'être extraite par les solvants organiques, seulement après libération de la molécule stéroïde liposoluble par hydrolyse du complexe (emploi d'une β -glycuronidase d'origine splénique). Après fractionnement par chromatographie sur papier (ZAFFARONI), les auteurs identifient la 17-hydroxycorticostérone comme étant le principal constituant des fractions

libres et conjuguées. Ils reconnaissent l'existence de faibles concentrations de corticostérone dans la fraction conjuguée seulement. Ils constatent l'absence de cortisone et admettent l'existence de stéroïdes α -kétholiques réducteurs ayant perdu le groupement cétone $\alpha\beta$ non saturé.

SWEAT et coll. prétendent évaluer quantitativement chez l'homme le comp. B et le comp. F dans le sang veineux surrénal comme dans le sang veineux périphérique, en partant de prises d'essai extrêmement faibles (2 à 5 ml.) ; les extraits sont chromatographiés sur micro-colonnes d'acide silicique et les déterminations sont faites par fluorescence.

D'après ces auteurs, le sang veineux surrénal contient pour 100 ml. : dans un cas de cancer du sein, 80 gammas de comp. B, 290 gammas de comp. F ; dans un cas de syndrome de CUSHING, 236 gammas de comp. B et 850 gammas de comp. F.

Après A.C.T.H. intra-veineux, les auteurs constatent une augmentation de concentration des composés B et F commençant 15 minutes après l'injection et atteignant son maximum en une à deux heures.

ROMANOFF, HUDSON, PINCUS extraient du sang veineux surrénal d'un sujet cancéreux, après administration massive d'A.C.T.H., le comp. F et le comp. B cristallisés (4,5 mg. d'hydrocortisone et 0,4 mg. de corticostérone à partir de 500 ml. de sang extrait par l'acétate d'isopropyle ; fractionnement par chromatographie sur gel de silice puis chromatographie sur papier). Ces auteurs ne parviennent pas « en dépit d'une recherche diligente » à déceler la plus petite quantité de cortisone, de désoxycorticostérone, de 11-désoxycorticostérone, de progestérone, mais admettent comme probable l'existence de dérivés type tétrahydro-E ou tétrahydro-F et de deux 17-cétostéroïdes : Δ 4-androstène-3-17-dione et 11 β -hydroxy-4-androstène-3-17-dione.

Cependant FARREL extrait du sang veineux surrénal du chien à côté de la 17-hydroxycorticostérone (147 gammas/100 ml.) et de la corticostérone (47 gammas/100 ml.), d'autres stéroïdes (chromatographie sur papier) non identifiés, mais évalués quantitativement dans certains cas : c'est ainsi que certains composés — présents dans le sang en quantités nettement inférieures, il est vrai — de polarité intermédiaire entre les composés F et B ou même inférieure à celle du comp. B présentent des propriétés physiques ou chimiques attribuables à d'autres stéroïdes corticosurrénaux connus, tels la cortisone et le comp. S. Rien ne peut être affirmé à ce sujet, d'après ce travail.

En conclusion, tous ces travaux concordent sur un point bien précis, à savoir la prédominance dans le sang surrénal et artériel périphérique de la 17-hydroxycorticostérone,

principalement et de la corticostérone, à un moindre degré (1). En particulier, la 17-hydroxycorticostérone, de loin la plus abondante et la plus active sur le métabolisme glucidique, tend à être considérée actuellement comme l'hormone glyco-corticoïde noble, comme le « chief compound » sécrété par le cortex surrénal. Partant de ce principe, NELSON et SAMUELS ont proposé, dès 1952, une méthode de dosage des 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins.

Notons que des méthodes de dosage des corticostéroïdes sanguins avaient été antérieurement proposées : méthodes biologiques (PASCHKIS) ; méthode chimique de CORCORAN et PAGE à l'acide périodique trop sujette à toute insuffisance de purification ; les propriétés formaldéhydogéniques sont extrêmement répandues en chimie organique (en la circonstance, interférence possible de phospholipides) ; méthode chimique proposée par PORTER et SILBER basée sur la réaction colorée que donnent les 17-21-dihydroxy-20-cétostéroïdes en présence de phénylhydrazine en solution sulfurique (couleur jaune avec maximum d'absorption à 410 m μ). Appliquant cette réaction à l'extrait lipidique sanguin, les auteurs ne parviennent pas à déceler la plus petite quantité de 17-hydroxycorticostéroïdes. La méthode se révélait insuffisamment sensible et le manque de spécificité de la réaction colorée devait inciter à faire une purification plus poussée du matériel à doser.

NELSON et SAMUELS s'inspirent des travaux de PORTER et SILBER et en tirent une micro-méthode basée sur la même réaction colorée, mais apte à doser des gammas de matériel ; l'estimation colorimétrique finale est précédée d'un fractionnement chromatographique sélectionnant d'une façon suffisamment spécifique les 17-hydroxycorticostéroïdes.

Voici le principe de la méthode de NELSON et SAMUELS :

30 ml. de sang laqué avec un égal volume d'eau ou 10 ml. de plasma sont extraits quatre fois par un mélange

(1) BUSH étudie le sang veineux surrénal de plusieurs espèces animales par chromatographie sur papier et constate que chez toutes les espèces étudiées la sécrétion interne corticosurrénale, est composée en majorité par la 17-hydroxy-corticostérone, la corticostérone et un composé provisoirement identifié avec la 11-hydroxy-4-androstène-3,17-dione.

Si la 17-hydroxycorticostérone est prédominante dans le sang veineux surrénal chez l'homme et les singes supérieurs (rapport F/B = 20), il n'en va pas de même pour toutes les espèces animales ; ce rapport F/B est essentiellement variable : F/B = 1 chez le bœuf (HECHTER), 5,6 chez le chien, 0,05 chez le rat (BUSH).

D'autre part, des corticostéroïdes, autres que les comp. F. et B ont pu être décelés dans la sécrétion interne cortico-surrénale dans des cas spéciaux : HECHTER et coll. perfusant des surrénales de bœuf isolées excitées par A.C.T.H. décèlent la sécrétion de faible quantité de cortisone. De même, BUSH décèle le comp. A sur les chromatogrammes de sang veineux surrénal chez le chat.

éther-chloroforme 4/1. Les extraits éthero-chloroformiques décantés chaque fois après centrifugation sont réunis et évaporés à sec. L'extrait sec est soumis à la partition hexane-éthanol : 20 ml. éthanol à 70 % extraits trois fois par 15 ml. d'hexane. L'alcool, qui contient les 17-hydroxycorticostéroïdes, est évaporé à sec. Le résidu repris dans 5 ml. de chloroforme est chromatographié sur une colonne de 11 mm. de diamètre intérieur contenant 1,5 gr. de silicate de magnésium-célite 1/1. L'élution se fait par 25 ml. de chloroforme à 2 % d'éthanol et 25 ml. de chloroforme à 15 % d'éthanol : c'est dans cette dernière fraction que passent les 17-hydroxycorticostéroïdes.

Cette chromatographie peut être aussi faite sur colonne de florosil (11 mm. $\times$ 70). L'élution est faite avec 25 ml. de chloroforme, 25 ml. de chloroforme à 2 % de méthanol, 25 ml. de chloroforme à 25 % de méthanol : cette dernière fraction contient les 17-hydroxycorticostéroïdes.

Estimation colorimétrique :

Le matériel à doser est dissous dans 0,2 ml. de méthanol, on additionne 0,3 ml. de réactif (préparé avec 16 mg. de chlorhydrate de phénylhydrazine recristallisé, dans 10 ml. d'acide sulfurique dilué 1,63/1 : 310 ml. d'acide sulfurique pour 190 ml. d'eau). On laisse réagir à 60° pendant une heure, puis après refroidissement, on fait la lecture photométrique à 410 m μ (de 370 à 450 m μ avec le Beckman) dans des micro-cellules à 0,5 ml.

Ainsi, d'après NELSON et SAMUELS, la concentration normale des 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins est de 4 à 16 gammas par 100 ml., exprimés en équivalents de comp. F. Les auteurs ne relèvent pas de différence artérioveineuse significative. D'autre part, la récupération de quantités connues de comp. F à partir du plasma est de l'ordre de 90 % ; or, nous l'avons vu, de nombreux travaux ont montré que le comp. F était le « chief compound » sécrété par le cortex surrénal. Si la technique proposée par NELSON et SAMUELS dose quelque autre 17-hydroxycorticostéroïde sanguin, elle n'en constitue pas moins une appréciation quantitative, satisfaisante du comp. F ; on dispose ainsi d'une méthode valable d'exploration fonctionnelle de l'activité cortico-surrénale (tout au moins de l'activité glyco-corticoïde) ; cette méthode ne comportant pas de sujétions pratiques particulières mériterait d'être plus largement utilisée en clinique. Dans cette voie, par exemple, GEMZELL a pratiqué des dosages de 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins au cours de la grossesse. BLISS, NELSON, SAMUELS étudient un test de réactivité corticosurrénale à l'A.C.T.H. mesurée par les modifications des 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins : ces auteurs constatent une élévation significative du

niveau des 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins après administration d'A.C.T.H. : cette élévation, essentiellement variable suivant le sujet testé, est pratiquement constante pour un même sujet. Ainsi deux tests répétés à une ou plusieurs semaines d'intervalle, sur une même série de huit sujets (15 U.I. A.C.T.H. intra-veineux donnent en moyenne : la première fois : 17,6 gammas par 100 ml. de sang, la deuxième fois : 18,2 gammas par 100 ml. de sang.

Il est intéressant de comparer ces travaux de NELSON et coll. à ceux de ROSENBERG, CORNFELD, BATES et ANDERSON, déterminant les corticostéroïdes du sang par une méthode biologique utilisant l'effet éosinopénique, proportionnel au logarithme de la dose exprimée en équivalents de comp. E. D'après ces auteurs, le taux normal dans le sang périphérique est de 9 à 15 gammas par 100 ml. de sang en équivalents de comp. E. Après A.C.T.H. ce taux s'élève à 44 gammas par 100 ml.

On pourra objecter que tout n'est pas tiré au clair, quant à la forme sous laquelle se trouvent les corticostéroïdes circulants. NELSON et SAMUELS n'extraient que des molécules directement solubles dans les solvants organiques et ne dosent ainsi que des 17-hydroxycorticostéroïdes libres, c'est-à-dire non conjugués. On pense maintenant que les hormones stéroïdes circulantes, en général, peuvent s'unir à d'autres constituants du sang pour former des complexes qui ont leurs caractéristiques de solubilité propres, différentes de celles des stéroïdes libres. On est encore mal renseigné sur la nature exacte de ces complexes. On peut se les représenter sous deux types :

- complexes stéroïdes-protéines sériques,
- complexes stéroïdes-acide glycuronique (et acide sulfurique).

ERK-NES compare in vitro la solubilité de différentes hormones stéroïdes dans une solution saline (solution tampon phosphate M/15) et dans une solution de protéine (sérum-albumine à 5 %) ; il constate, par exemple, les chiffres suivants (nombre de micro-molécules par litre de solution), correspondant à des concentrations de stéroïdes en solution saturée.

	<i>Tampon-Phosphate</i> M/15	<i>Sérum-Albumine</i> 5 %
Cortisone	600	1.400
D.O.C.	180	1.030
Testostérone	125	2,150

Ainsi la solubilité des stéroïdes dans le sang est explicable, en partie, par la formation de complexes avec la sérum-albumine (la sérum-globuline joue ici un rôle faible ou nul), 70 % de la solubilité de la testostérone et 85 % de la solubilité de la progestérone seraient dûs à l'influence de la sérum-albumine. Ces complexes stéroïdes-protéines peuvent être considérés rationnellement comme des formes de transport de ces hormones.

La liaison entre stéroïde et protéine (contrairement à ce qui se passe dans la formation des glycuronidates) n'est pas de caractère proprement chimique. Il s'agit de liaison associative pour laquelle on a invoqué l'intervention des forces de VAN DER WAALS, de la liaison hydrogène, d'attraction de dipôles, même de la charge de la molécule protéique. On a montré expérimentalement que la force de cette liaison est inversement proportionnelle au nombre de groupes polaires portés par le stéroïde étudié. En général, et surtout pour les stéroïdes les plus polaires, comme le comp. F, il s'agit d'une liaison lâche et réversible ; ce qui expliquerait qu'on ait pu faire une extraction pratiquement totale des stéroïdes hormonaux à partir du sang, par les seuls solvants organiques : extraction de la testostérone à partir du sang de la veine spermatique (WEST et coll.) ; extraction de la progestérone à partir du sang veineux ovarien (EDGAR) ; extraction de l'hydrocortisone et la corticostérone : cet argument serait nettement en faveur de la technique de NELSON et SAMUELS.

Mais cette copulation des hormones stéroïdes avec la sérum-albumine modifie complètement leurs conditions de filtration rénale. Elle explique que ces hormones apparaissent dans l'urine seulement à l'état de faibles traces en dépit d'une production endogène importante ou d'une administration thérapeutique prolongée à fortes doses.

Bien différent est le comportement des complexes formés avec l'acide glycuronique (ou l'acide sulfurique). Il s'agit ici de véritables combinaisons chimiques, stables et irréversibles : formation d'une liaison osidique (glycuronidates) ou ester (sulfates), dont la scission ne peut être obtenue que par hydrolyse (acide ou enzymatique). Les glycuronidates (comme les sulfates) sont caractérisés par leur haute hydrophilie : ils sont très peu solubles dans les solvants organiques, leur filtrage rénal est rapide et leur élimination urinaire importante. BONGIOVANNI a proposé de modifier la méthode de NELSON et SAMUELS en faisant précéder l'extraction étherochloroformique du début par une hydrolyse enzymatique des glycuronidates, suivie d'une dialyse contre eau distillée pour recueillir les stéroïdes libérés. L'auteur prétend ainsi doser les 17-hydroxycorticostéroïdes

sanguins libres et conjugués ; il constate effectivement des rendements nettement accrus en matériel dosable (chiffres normaux 2 à 4 fois plus élevés que ceux de NELSON et SAMUELS).

En fait, on tend à considérer actuellement que les corticostéroïdes hormonaux, contrairement à ce que nous rapporte SAVARD, sont peu aptes à donner des complexes hydrosolubles avec l'acide glycuronique ou l'acide sulfurique. Le comp. F et le comp. B seraient en grande majorité soit sous forme libre, soit sous forme de complexes stéroïdeprotéine. La glycuro-conjugaison (et la sulfo-conjugaison) seraient plutôt l'apanage des produits de dégradation, en particulier ceux provenant d'une réduction du groupement cétone $\alpha\beta$ non saturé du noyau A.

Ainsi, on peut discuter l'opportunité de la modification proposée par BOXGIOVANNI : en effet, les 17-hydroxycorticostéroïdes dans la fraction conjuguée (glycuronidates et sulfates) sont vraisemblablement constitués en grande majorité non par du comp. F (contrairement à la fraction « libre »), mais bien par des produits de dégradation ; or, ceux-ci ne sont pas représentatifs exclusivement de l'activité corticosurrénale car ils sont aussi fonction de mécanismes extra-surrénaux mal connus régissant le catabolisme des hormones corticosurrénales. Ces mécanismes constituent autant de variables faussant la signification des résultats de façon imprévisible.

LA SÉCRÉTION INTERNE MINÉRALOCORTICOÏDE

Dans le domaine des minéralocorticoïdes, le problème se présentait de façon beaucoup plus complexe.

Un corticostéroïde obtenu cristallisé à partir du tissu glandulaire, même s'il est doué d'une activité jugée importante par l'étude de tel essai biologique, n'est pas nécessairement une « hormone » effectivement sécrétée par la glande dans le milieu intérieur (ceci est déjà vérifié par le cas de la cortisone). Un tel corticostéroïde n'est peut-être que le précurseur d'un composé bien plus actif, structuralement différent et suffisamment instable pour rendre son isolement difficile. La désoxycorticostérone a bien été décelée, par chromatographie sur papier, dans les extraits corticosurrénaux et dans le sang de perfusion de surrénales de bœuf activées par A.C.T.H. (HECHTER) ; mais sa présence dans le sang humain n'a pas été démontrée, et sa trop faible concentration dans le cortex surrénal ne rend compte que d'une très faible partie de la forte activité minéralorégulatrice de

l'extrait corticosurrénal total. Rappelons que l'on a même nié que la désoxycorticostérone fut une substance naturelle. DOBRINER a évoqué la possibilité qu'il ne s'agisse que d'un artefact prenant naissance au cours du processus d'extraction. La conclusion de tout ceci est que l'on ne pouvait admettre que la désoxycorticostérone fut une substance normalement sécrétée dans le sang en tant qu'« hormone minéralocorticoïde » au sens exact du mot. Or, avant 1953, on ne connaissait pas d'autre stéroïde possédant une telle activité minéralocorticoïde. Il fallait pourtant tenter d'expliquer la fonction minéralorégulatrice de la surrénale.

C'est alors que la distinction entre glyco et minéralocorticoïde a été sérieusement remise en question. D'après VERZAR, il est important de reconnaître que la physiologie n'a jamais prouvé l'existence de telles hormones qualitativement différentes. Que le glycogen-test de REINECKE et KENDALL montre une action beaucoup plus rapide des « 11-oxystéroïdes » n'enlève rien à la constatation expérimentale suivante : un animal surrénalectomisé maintenu en survie pendant des mois par une corticothérapie limitée à la désoxycorticostérone, voit son glycogène hépatique et musculaire maintenu à la normale. Chez un animal nourri avec un régime comprenant de fortes proportions de glucose (et de protéines), l'activité glycogénique de la D.O.C. arrive à être semblable à celle de la cortisone. Inversement, WIRZ compare l'action sur les électrolytes de la cortisone à celle de la D.O.C. : une injection de 1 mg. de D.O.C. ramène à la normale le taux de sodium plasmatique du rat surrénalectomisé en 24 heures, tandis que 1 mg. de cortisone ne le peut mais si l'on donne la même quantité de cortisone (1 mg.) en quatre doses de 0,25 mg. administrées toutes les six heures, on ramène à la normale le taux de sodium plasmatique du rat surrénalectomisé ; donc action qualitativement identique à celle de la D.O.C. (importance de la dose et du temps d'action).

CONN, LOUIS, FAJANS ont suggéré que toutes les manifestations de la corticotrophine chez l'homme peuvent être mises sur le compte de la sécrétion de comp. F. Pour ces auteurs, les trois glycocorticoïdes connus, les plus actifs (comp. F, E et B) sont capables d'exercer une rétention de sodium chez l'homme. Etudiant l'action de la cortisone et des stéroïdes voisins dans le métabolisme minéral de l'homme, SPRAGUE et coll. notent aussi un effet de rétention sodique et hydrique, pouvant aller jusqu'à la formation d'œdèmes. Cependant, l'action n'est pas univoque ; dans certains cas, en dépit d'une administration prolongée de cortisone, le sel et l'eau retenus peuvent être excrétés et les œdèmes disparaissent.

PITTS rapporte aussi un effet sodium-retenant de la cortisone chez le chien. Nous avons vu, d'autre part, que toutes les hormones connues du cortex ont été trouvées responsables d'un abaissement du rapport Na/K urinaire. La tendance actuelle est bien de vouloir attribuer à la cortisone comme au comp. F et B une activité sodium-retenant, à tel point qu'en thérapeutique, la cure cortisonique ne se conçoit pas sans régime déchloruré, sous peine d'accidents de rétention hydro-saline (THORN, par exemple, évalue l'activité sodium-retenant de la cortisone au 1/50 de celle de la D.O.C.A.).

Puisque des travaux ont montré que les comp. F et B sont de loin les constituants majeurs de la sécrétion interne corticosurrénale, il est apparu à certains (SAYERS) qu'il n'était pas nécessaire de postuler la sécrétion d'un minéralocorticoïde spécifique, d'une hormone sodium-retenant par le cortex surrénal.

En réalité, cette opinion ne pouvait rendre compte de tous les faits. Ainsi la théorie de SELYE du syndrome et des maladies de l'adaptation pose fondamentalement comme postulat que le cortex surrénal sécrète un minéralocorticoïde à action distincte et antagoniste de l'action des glyccorticoïdes. D'autre part, on devait reconnaître que la cortisone seule est loin d'être pleinement efficace dans le traitement de la maladie d'Addison, elle n'est pas aussi efficace que l'extrait surrénal total dans la correction des troubles variés que présente l'animal surrénalectomisé.

Le domaine des minéralocorticoïdes et le problème de la sécrétion interne minéralocorticoïde vont se trouver renouvelés avec les travaux très récents aboutissant à la connaissance de l'aldostérone.

L'ALDOSTÉRONE

Comparant l'activité de la D.O.C.A. et de l'extrait corticosurrénal total, les auteurs SIMPSON et TAIT concluèrent déjà en 1952 que la haute activité minérale de l'extrait corticosurrénal ne pouvait être due qu'à un ou plusieurs composés ne figurant pas dans la liste des composés déjà connus. On avait depuis longtemps observé qu'après cristallisation à partir de concentrats de glande des stéroïdes cortico-actifs, il restait dans les eaux-mères des substances résistant à toute tentative de cristallisation ; or ces substances possèdent une très haute activité sur la survie : ainsi MASON et KENDALL constataient que cette « fraction amorphe » retient environ

50 % de l'activité de l'extrait total originel et, par unité de poids, possède une action sept à quinze fois supérieure à celle de la D.O.C., de cent à cinq cents fois supérieure à celle de la cortisone. Cependant la nature de la ou des substances responsables de cette haute activité est restée pendant longtemps un mystère.

Le perfectionnement des techniques d'extraction a permis d'isoler au moins une substance responsable de cette haute activité ; dès 1952, SIMPSON, TARR et BUSH tentent de faire l'isolement à partir de l'extrait corticosurrénal de ce composé encore hypothétique en utilisant la chromatographie sur papier, suivant la technique de BURTON et ZAFFARONI. Les composés repérés sur le chromatogramme par réduction de l'hydroxyde d'argent ammoniacal, par réduction du T.P.T.Z. par la 2-4-dinitrophénylhydrazine, par l'absorption à 240 m μ , sont élués et testés quant à leur activité minéralorégulatrice par la technique de SIMPSON et TARR (Na²⁴/K⁴²). Or, les auteurs constatent que c'est l'éluat provenant de la zone du chromatogramme correspondant à la tache de cortisone, qui possède la plus haute activité sur le métabolisme des électrolytes ; 87 % de l'activité de l'extrait sont localisés à ce niveau. Etant donnée la très faible activité du comp. E comparée avec celle de l'extrait, on est vite arrivé à la conception de l'existence d'un composé dont la vitesse de déplacement sur le papier serait égale à celle de la cortisone (système propylène-glycol : toluène). En tous cas, dans l'expérience de ces auteurs, l'activité minérale maximum était loin de coïncider avec les taches de D.O.C.. Complétant ce travail, GRUNDY, SIMPSON, TARR tentent de séparer complètement le minéralocorticoïde inconnu de la cortisone : ils y parviennent par chromatographie prolongée ; l'éluat obtenu dans la zone de la cortisone n'a plus qu'une très faible activité minérale. Le stéroïde inconnu se trouve ailleurs, sur le chromatogramme. Or l'activité minérale maximum correspond à une aire bien délimitée : les propriétés du composé responsable seraient celles d'un stéroïde α -kétolique (réduction du T.P.T.Z.), qui aurait perdu le groupement one-3- Δ^4 (pas d'absorption à 240 m μ). GRUNDY, SIMPSON et TARR par des calculs théoriques basés sur le « running rate » du composé cherchent à se faire une idée de sa structure : celui-ci se déplace sur le papier légèrement plus vite que le comp. E et beaucoup plus lentement que le comp. S de REICHSTEIN. Il faut tenir compte ici de l'éventuelle existence d'un oxhydrile en 3 prouvée par spectre ultra-violet et, semble-t-il, par acétylation (formation d'un di ou d'un poly-acétate) ; les composés connus, parmi la trentaine des stéroïdes classiques, qui se rapprochent le plus de par leurs propriétés chimiques et leurs caractéristiques chromato-

phiques du corps recherché, sont les composés R et P de REICHSTEIN : la première conclusion des auteurs est que le stéroïde recherché est peut-être un épimère du comp. R ou du comp. P. Cette hypothèse a été démentie par les recherches ultérieures.

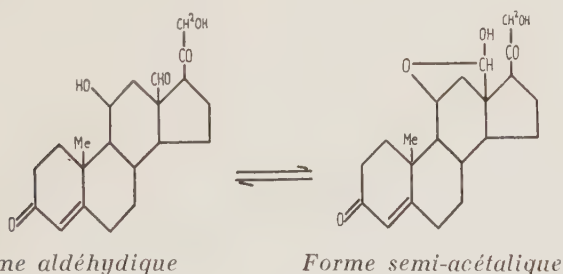
Le fait qu'un composé sans groupement cétone $\alpha\beta$ non saturé puisse être biologiquement actif, s'inscrit contre ce que nous écrivions précédemment (page 20). En fait, il faut l'admettre au moins dans un cas : HEARD fait remarquer que le comp. C de REICHSTEIN est très actif sur le test de survie ; or, il s'agit de l'allopregnane-3 α -11 β -17 α -21-tétrol-20-one. A côté de cela le comp. D de REICHSTEIN extrêmement voisin, est inactif sur le même test.

Plus tard, SIMPSON, TAIT, BUSH retrouvent les mêmes faits en fractionnant par chromatographie sur papier l'extrait de sang veineux surrénal (perfusion d'une surrénale isolée de singe, recueil du sang veineux surrénal de chien *in vivo*) ; dans le sang veineux surrénal existe, également, une substance à très haute activité minéralocorticoïde, possédant les mêmes caractéristiques chimiques et chromatographiques que celle déjà vue lors du fractionnement de l'extrait corticosurrénal : « running rate » très voisin de celui de la cortisone, la séparation de la cortisone et de la substance demandant une chromatographie très prolongée. Ainsi les auteurs pensent que la question de la sécrétion interne de minéralocorticoïdes doit être reconsidérée en fonction de ces données. Il semble, d'ores et déjà, évident qu'une substance assimilable à un minéralocorticoïde extrêmement puissant, similaire sinon identique à celle déjà vue dans l'extrait corticosurrénal est effectivement déversée dans le courant sanguin par la surrénale du singe et du chien. Cette substance apparaît ainsi comme une hormone active de signification physiologique et pas simplement un composant d'extrait de glande ou un artefact. Il reste à connaître cette substance.

Le 25 Août 1953, REICHSTEIN annonce devant le VIII^e Congrès International des Maladies Rhumatismales de Genève, qu'avec l'aide de ses collaborateurs WETTSTEN, VON EUW, NEHER, SIMPSON et TAIT, il est parvenu à isoler sous forme pure et cristallisée, à partir de surrénale de bœuf, un nouveau stéroïde à très haute activité minéralorégulatrice (extraction au chlorure d'éthylène ; partition méthanol-éther de pétrole ; chromatographie du résidu méthylol-soluble sur colonne : 140 fractions ; chromatographie sur papier ; substance cristallisée dans l'acétone-éther). Les cristaux fondent à 153-158° et — contrairement à ce qu'avaient cru tout d'abord SIMPSON et TAIT — présentent en solution méthylique le spectre d'absorption typique des stéroïdes porteurs du système résonnant one-3- Δ^4 . Il est curieux

de constater que primitivement on ait voulu donner à ce composé, nommé provisoirement électrocortine, la constitution de la 16-hydroxy-11-désoxycorticostérone. On restait ainsi dans la saine tradition : une activité minérale importante ne pouvait s'accommoder que d'un composé « désoxy ».

En fait, par dégradation chimique de la molécule (obtention de l'ester méthylique de l'acide 3, 11-dicéto-étio-allocholannique, obtention de composés à cycle β -lactonique) on a montré (WETTSTEIN, REICHSTEIN) qu'il s'agissait en réalité du 11 β -21-dihydroxy-3, 20-dicéto- Δ 4-prégnène-18-al) : soulignons en particulier la présence du groupement 11 β -hydroxy et le remplacement du méthyl angulaire en 13 par un groupement formyl ; d'où le nom définitif d'aldostérone. En solution, ce produit réagit principalement sous forme semi-acétalique.



L'expérimentation physiologique et les débuts d'application clinique de l'aldostérone ont montré que cette substance possède une fonction minéralorégulatrice et une efficacité sur la survie plusieurs dizaines de fois supérieures à celles de la désoxycorticostérone. Cependant cette différence quantitative se double d'une distinction qualitative, le mécanisme d'action de l'aldostérone paraît devoir différer de celui de la D.O.C. dans certains cas.

L'activité minéralocorticoïde de l'aldostérone a été inventoriée par DESAULLES, TRIPOD, SCHULER faisant une étude comparative avec la désoxycorticostérone. Ces auteurs utilisent le test de KAGAWA modifié. Alors que KAGAWA n'étudiait que l'effet de rétention du sodium, DESAULLES et coll. étudient les trois fonctions différentes : rétention du sodium, excrétion de potassium, élimination d'eau.

L'aldostérone s'est révélée 25 fois plus active sur la rétention du sodium que la D.O.C. ; la dose qui entraîne une rétention de 50 % du sodium est, par animal, 0,16 gamma d'aldostérone contre 4 gammas de D.O.C. La différence d'activité serait moins marquée quant à l'excrétion du potassium ; une excrétion du potassium de 50 % est obtenue

avec 6 gammas d'aldostérone par animal et par 30 gammas de D.O.C. par animal. L'aldostérone est proportionnellement plus active sur le métabolisme du sodium ; pour des doses suffisamment faibles d'aldostérone, il peut être le seul influencé ; la D.O.C., par contre, agit simultanément sur le métabolisme du sodium et du potassium.

L'aldostérone n'exerce aucune influence sur l'élimination de l'eau, même à une dose 10 fois supérieure à celle qui entraîne une rétention de sodium de 80 %, et ce contrairement à la D.O.C... « qui entraîne une rétention aqueuse mais également à une dose beaucoup plus élevée que celle nécessaire à la rétention du sodium. La rétention du sodium et l'élimination d'eau sont donc dissociées et du moins dans les limites du test utilisé, la rétention du sodium n'est, vraisemblablement pas, une conséquence directe de la rétention d'eau. L'aldostérone se différencie donc nettement de façon quantitative et qualitative de la désoxycorticostérone au point de vue de son action sur l'élimination des électrolytes et de l'eau. Quantitativement, elle entraîne une rétention de sodium 25 fois plus forte et une élimination de potassium 5 fois plus élevée, mais elle n'a aucun effet sur l'élimination de l'eau. Qualitativement, elle possède un mécanisme d'action fondamentalement différent de celui de la désoxycorticostérone » (GUILLEMIN).

L'activité de l'aldostérone, mesurée par l'abaissement du rapport $\text{Na}^{24}/\text{K}^{42}$ urinaire, serait 100 fois supérieure à celle de la D.O.C.A. Chez le rat surrénalectomisé, l'aldostérone assure l'équilibre électrolytique à doses 25 fois plus faibles que la D.O.C.A. ; son activité sur la survie du chien surrénalectomisé est 20 à 30 fois plus forte que celle de la D.O.C.A.

MACH et coll. ont fait les premiers essais cliniques de l'aldostérone chez des addisoniens en période d'insuffisance surrénale et ont rapporté son action thérapeutique remarquable : l'aldostérone corrige en quelques heures les manifestations cliniques et les troubles électrolytiques de la maladie d'Addison ; la dose efficace, située entre 150 et 200 gammas par jour fait apparaître une activité 20 à 30 fois plus importante que pour la D.O.C.A. ; d'autre part, ce qui constitue un avantage pratique par rapport à la D.O.C.A., l'aldostérone ne produit ni hypertension artérielle, ni accidents de rétention hydro-saline.

Soulignons l'action remarquable sur la pigmentation, une certaine action hyper-glycémiante et l'absence d'action sur les éléments figurés du sang, jusqu'ici constatée.

Ainsi, du point de vue thérapeutique, la connaissance de l'aldostérone présente un intérêt considérable. Du point de vue théorique pur, elle doit avoir également un profond

retentissement ; elle facilite notre compréhension de l'ensemble si complexe qu'est la physiologie de la corticosurrénale. Il est vraisemblable qu'on détient là, la véritable hormone minéralorégulatrice indispensable à la vie. La sécrétion interne de ce composé semble confirmée par certains travaux qui ont permis de le déceler dans l'urine. En 1952, BUSH, DE COURCY et GRAY y font déjà allusion au cours d'une analyse chromatographique de l'extrait urinaire. COPE et LLAURADO, plus récemment, auraient décelé un corps identique à l'électrocortine dans l'urine. Ainsi se trouverait expliquée l'activité minéralorégulatrice de l'extrait urinaire (tests de DEMING, KAGAWA, SINGER), dans lequel justement on n'a jamais pu mettre en évidence la désoxycorticostérone.

Les problèmes concernant le syndrome d'adaptation, l'étiologie, la pathogénie des maladies de l'adaptation, sont à reconsidérer et à réétudier avec ce matériel nouveau qu'est l'aldostérone. Les détracteurs de la théorie de SELYE n'ont pas manqué de faire remarquer à cet auteur que la désoxycorticostérone, « l'hormone prophlogistique », responsable de la genèse des lésions inflammatoires (d'ailleurs dûment reproduites pour certaines sur l'animal par injections massives de cette substance) n'est probablement pas sécrétée dans le milieu intérieur ; on a même prétendu que ce n'était peut-être pas une substance naturelle.

Il sera extrêmement intéressant d'étudier les propriétés de l'aldostérone vis-à-vis de l'inflammation. On peut se demander si ce minéralocorticostéroïde, extrêmement actif, a un pouvoir prophlogistique (à l'instar de la D.O.C.) en rapport avec son activité minéralorégulatrice ; il est possible que le pouvoir pro-inflammatoire d'un stéroïde, dont DOUGHERTY a essayé d'étudier le substratum biochimique, contracte certains rapports avec son activité minérale, en particulier son effet sodium-retenant. Notons que certaines maladies de l'adaptation, reproduites sur l'animal par SELYE, requièrent, outre des injections de désoxycorticostérone, un régime alimentaire riche en chlorure de sodium (c'est le cas de la péri-artérite noueuse, de la néphrosclérose, de la production de nodules fibreux type nodule d'ASCHOFF dans le myocarde).

*
* *

Ce chapitre sur la sécrétion interne corticosurrénale serait incomplet si nous ne faisons allusion à la sécrétion androgène de la surrénale. Rappelons que les 2/3 des 17-cétostéroïdes urinaires chez l'homme sont d'origine surrénale (17-C.S. type β). La quasi totalité des 17-C.S. chez la femme sont d'origine surrénale. Le rôle de cette sécrétion paraît

démontré dans des cas pathologiques : par exemple tumeurs de la surrénale donnant des syndromes cliniques à types de puberté précoce, de virilisme pileux chez la femme, de syndrome d'Apert-Gallais, signés par une grosse augmentation des 17-C.S. urinaires portant essentiellement sur la fraction β (augmentation de la hauteur des sommets II et III sur le chromatogramme des 17-C.S. suivant DINGEMANNSE), dont le métabolite type est la déhydroisoandrosterone donnant la réaction de Patterson. Cependant, le rôle à l'état physiologique des androgènes surrénaux et la nature même de « l'hormone androgène surrénale » sont inconnus.

De même, on est très mal renseigné sur le rôle éventuel d'une sécrétion œstrogène par le cortex surrénal.

CHAPITRE IV

Catabolisme tissulaire des corticostéroïdes

Nous avons vu ce que sont les corticostéroïdes et, parmi eux, ceux qui sont doués d'activité hormonale, des propriétés physiologiques spécifiques caractéristiques du cortex surrénal. Que sont à côté les composés stéroïdiques retrouvés dans l'urine pouvant provenir de l'activité corticosurrénale ? Le problème est d'importance si l'on veut baser une épreuve fonctionnelle de l'activité corticosurrénale sur l'appréciation quantitative de métabolites — censés provenir de cette activité — éliminées dans l'urine pendant l'unité de temps. A vrai dire, on est encore assez mal renseigné sur la nature même de ces métabolites.

Toutes les méthodes de dosage proposées anciennement (TALBOT : HEARD et SOBEL : CORCORAN ; DAUGHADAY — pour les méthodes chimiques ; VENNING ; SPEIRS — pour les méthodes biologiques) tablaient sur l'application de propriétés, chimiques ou biologiques, communes à l'ensemble ou à un certain nombre de corticostéroïdes : nous avons vu quelles sont les propriétés chimiques biologiques de ces corps ; nous avons vu comment on peut les caractériser. En somme, chaque groupement fonctionnel peut faire la preuve de son existence. Mais que sont devenus ces groupements fonctionnels quand les corticostéroïdes hormonaux sont devenus des « corticoïdes urinaires » — des « cadavres biochimiques » (DEVIS) — après avoir été soumis à l'activité catabolisante des systèmes enzymatiques tissulaires ? Au début, quand on a voulu doser les corticoïdes urinaires, on leur a prêté implicitement les caractéristiques biochimiques et biologiques

des composés nobles eux-mêmes ; tout au moins, dosait-on telle activité glycémique, éosinopénique, réductrice ou formaldéhydogénique attribuable aux composés cristallisés connus et chiffrés d'ailleurs en équivalents de composés actifs (D.O.C. ou comp. E, le plus souvent).

Le travail difficile, mais indispensable, de savoir ce que sont les métabolites urinaires provenant de la corticosurrénale a enregistré quelques progrès. Nous connaissons actuellement la nature de certains d'entre eux qui ont pu être isolés et caractérisés : domaine des 17-C.S. (DOBRINER) domaine des composés en C21 (DOBRINER, MASON, SCHNEIDER, ZAFFARONI).

D'autres travaux ont suivi une voie sensiblement différente pour préciser quelles sont les dégradations subies par les corticostéroïdes dans les tissus.

Une petite fraction de la sécrétion interne corticosurrénale passe non transformée dans l'urine, à laquelle elle confère des propriétés corticomimétiques ; c'est la « cortin-fraction » urinaire testable et dosable biologiquement par son pouvoir glycogénique (VENNING), éosinopénique (SPEIRS ; COSTE ; ROSEMBERG), minéralorégulateur (DEMING et LUETSCHEER ; CHART et SHIPLEY ; SINGER et VENNING). Mais la plus grande partie des corticostéroïdes est dégradée dans les tissus avec, en général, perte de toute activité biologique, avant d'être éliminée dans l'urine ; c'est ce que font ressortir de nombreuses études effectuées soit à l'aide de techniques de perfusion d'organes isolés (HECHTER), soit à l'aide de techniques *in vitro* utilisant coupes ou broyats de tissus (SCHNEIDER), soit à l'aide de techniques *in vivo* : DOREMAN étudie ainsi l'élimination urinaire des produits de transformation de stéroïdes administrés à haute dose à un organisme vivant. Les résultats se recoupent volontiers de façon satisfaisante et ont permis certaines conclusions définitives.

Les transformations subies par les corticoïdes hormonaux dans les tissus sont peut-être assez diverses. Les plus importantes — et aussi les mieux connues — semblent être celles qui interviennent :

— Au niveau du groupement cétone $\alpha\beta$ non saturé du noyau A.

— Au niveau de la chaîne latérale en 17.

DÉGRADATION DU SYSTÈME RÉSONNANT ONE-3- Δ 4

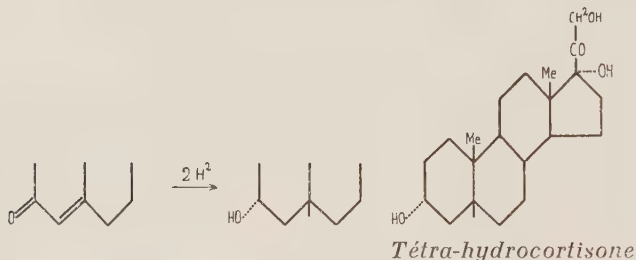
Ce groupement semble être le plus vulnérable vis-à-vis de l'activité catabolisante des tissus.

SCHNEIDER étudie les modifications de ce groupement par une technique simple *in vitro* : incubation de désoxycorticostérone ou de cortisone libres avec des coupes de tissu (de foie en particulier) en milieu tamponné. Dans le cas de la cortisone, il constate qu'après trois heures d'incubation à 38°, 83,3 % du stéroïde sont métabolisés d'après la mesure de la densité optique à 240 m μ , 75,5 % d'après la mesure de l'absorption à 280 m μ dans l'acide sulfurique. Il s'agit donc d'un catabolisme actif. Or c'est le tissu hépatique qui, de loin, vient en tête dans cette activité (suivi à bonne distance par le rein) ; le foie peut être considéré comme le centre principal du catabolisme des corticostéroïdes. Dans l'expérience de SCHNEIDER, la disparition de la cortisone (évaluée par la perte de l'absorption à 240 m μ) s'élève à 3 gammas/mg. de tissu en trois heures à 38°. Les courbes de disparition dans le temps de la cortisone et de la D.O.C. sont essentiellement similaires. L'examen de la courbe de la D.O.C. révèle que la réaction, totale au bout de trois heures, est de 50 % au bout de 15 minutes, et de 73 % au bout d'une heure. Ces résultats concordent avec ceux d'HECHTER, SALOMON et CASPI étudiant le catabolisme hépatique des corticostéroïdes hormonaux en perfusant des foies de rats : ces auteurs étudient la perte du groupement one-3- Δ 4 par l'analyse du spectre ultra-violet et en employant la méthode des « Yellow Z chromogens » de ZIMMERMANN dont l'absorption est lue à 515 m μ . Ces auteurs constatent, eux aussi, le haut pouvoir catabolisant du foie (qui correspondrait pour un foie humain de 1.500 g. à une vitesse de transformation initiale de 150 mg./minute de stéroïde).

Cependant, dans les conditions physiologiques, l'activité métabolique du foie vis-à-vis des corticostéroïdes est considérablement plus basse. Le taux de transformation hépatique, en effet, dépend de la concentration des corticostéroïdes dans le sang : celle-ci est sensiblement plus basse dans les conditions physiologiques que dans les conditions expérimentales. NELSON a étudié dans des conditions physiologiques la disparition rapide du milieu sanguin de la cortisone administrée par voie intra-veineuse à des chiens. Le foie est le seul des organes étudiés pour lequel existe une différence artério-veineuse significative de concentration du comp. E.

Quelle est la nature de la transformation du système résonnant cétone $\alpha\beta$ non saturé ?

Il s'agit essentiellement d'une réduction avec formation d'un dérivé du prégnane, 3 α -hydroxy, type tétra-hydro E. HECHTER pense que les stéroïdes à groupement cétone $\alpha\beta$ non saturé sont des accepteurs d'hydrogène, l'hydrogène pouvant être fourni par l'oxydation intra-hépatique du



(1 mole de corticostéroïde pouvant fixer 2 moles d'hydrogène)

glucose. CHERNICK et CHAIKOFF, étudiant l'utilisation de glucose marqué (C14) par des coupes de foie de rats, trouvent une consommation de glucose égale à 1,4 μ M/heure/gramme de foie, correspondant à la production de 8,4 μ M/heure/gramme d'hydrogène (d'après l'équation de GAY-LUSSAC). En métabolisme aérobie pur, cet hydrogène est transporté sur l'oxygène activé pour former de l'eau. Or, les corticostéroïdes à la concentration de 100 gammas/ml. (0,27 μ M/ml.) en présence du système enzymatique approprié pourraient théoriquement accepter presque quatre fois autant d'hydrogène qu'il peut en provenir de l'oxydation complète du glucose dans le foie. En effet, une vitesse de transformation des corticostéroïdes de 100 gammas/minute/gramme de tissu (effectivement constatée par HECHTER), correspondant à 16,6 μ M/heure/gramme, implique la fixation de 33,2 μ M d'hydrogène/heure/gramme.

Ainsi il est clair que le groupement one-3- Δ 4 peut être regardé comme un puissant accepteur d'hydrogène capable de réduire la consommation en oxygène tissulaire. Cette notion qu'un stéroïde présentant ce groupement résonnant, tel que la testostérone à des concentrations élevées réduit la consommation d'oxygène de coupes de tissu (foie), peut être une expression de son activité (HECHTER).

HABEEB BACCHUS étudiant les facteurs affectant le catabolisme des stéroïdes par le foie in vitro, reconnaît que la dégradation du groupement one-3- Δ 4 est inhibée au moins partiellement par l'acide ascorbique, une atmosphère

d'azote, de cyanure de potassium. Le fait que l'atmosphère d'azote diminue le catabolisme du système résonnant, suggère, pour cet auteur, l'intervention d'un processus d'oxydo-réduction : la transformation du groupement one-3- Δ^4 se fait par réduction ; il est possible alors qu'un intermédiaire soit oxydé pour permettre cette réduction (ceci concorde avec les suggestions de HECHTER, pour qui l'intermédiaire en question serait le glucose).

La conséquence de cette réduction du système résonnant du noyau A est la production d'une grande quantité de composés type tétra-hydro, de la série du prégnane, avec orientation en β de l'hydrogène en 5 — donc épimères des composés de la série de l'allopregnane extraits du cortex surrénal — réducteurs (α -kétoïques) ou non (suivant l'atteinte ou non de la chaîne latérale en 17), dépourvus de toute activité biologique : ce dernier point soulève une difficulté. En effet, les comp. E et F ne sont que légèrement moins actifs per os que par injection parentérale. Or, on a généralement avancé que les stéroïdes administrés per os sont, après absorption intestinale, dérivés directement dans le foie par la veine porte et la moindre efficacité d'hormones administrées per os, telles qu'œstradiol, œstrone, testostérone, progestérone, désoxycorticostérone, est un reflet du plus grand degré d'inactivation intra-hépatique, conséquence de l'administration orale. Il est curieux de constater, en revanche, que l'activité anti-rhumatismale et l'activité thymolytique de la cortisone donnée per os ne semblent que peu influencées par l'étape hépatique. Cependant, PASCARIK et coll. ont clairement démontré que l'activité glycogénique de la cortisone est notablement abaissée par l'incubation avec des coupes de foie de rats. Ainsi on note une discordance entre les notions obtenues in vitro et in vivo :

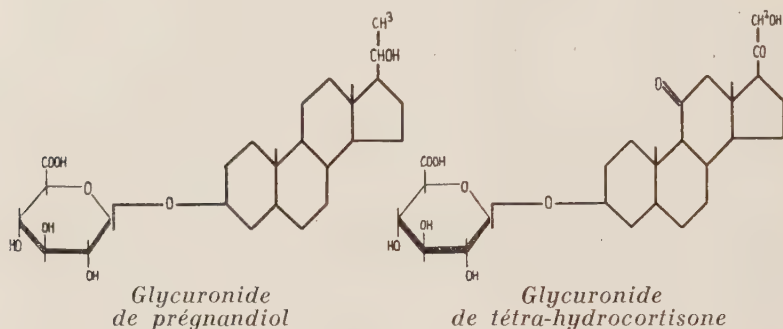
— In vitro : dégradation extrêmement active par le foie des comp. E et F.

— In vivo : résistance relative à l'action catabolisante du foie de certaines propriétés biologiques prêtées aux mêmes composés.

On pourrait penser (HECHTER) que les propriétés anti-arthritiques, thymolytiques et peut-être d'autres propriétés biologiques prêtées à la cortisone, relèvent de certains produits inconnus formés au cours du métabolisme intra-hépatique du composé.

Cette réduction du système résonnant est un fait assez général en matière d'hormones stéroïdes ; elle se retrouve pour la progestérone (formation du prégnandiol), pour la testostérone (formation de dérivés de la série de l'androstane

— 5α — et de la série de étiocolane — 5β). La formation d'un — OH en 3 à la place du groupement cétone primitif constitue peut-être une étape nécessaire pour assurer la conjugaison ultérieure avec l'acide glycuronique. Il est intéressant de comparer la structure du glycuronide de prégnandiol (liaison osidique type avec l'oxhydrile en 3 du prégnandiol) avec la structure possible du glycuronide de tétrahydrocortisone, corticoïde excrété en majeure partie sous forme de complexe hydro-soluble.



En règle générale, il semble que la glycuco-conjugaison se fasse rarement sur des métabolites qui ont conservé le groupement one-3- Δ^4 .

MÉTABOLISME DE LA CHAÎNE LATÉRALE EN 17

Il est curieux de constater, tout d'abord, que la présence d'une chaîne latérale en 17 influe sur le processus de réduction du groupement one-3- Δ^4 , en déterminant la représentation stérique de l'hydrogène en 5 ; DORFMANN remarque les faits suivants :

— La testostérone et la 4-androstène-3-17-dione (pas de chaîne latérale en 17 et pas de groupement oxygéné en 11) se transforment en dérivés réduits soit de la série de l'androstane, soit de la série de l'étiocolane, et ce en quantités sensiblement équivalentes ($5\alpha = 5\beta$).

— L'adrénostérone (pas de chaîne latérale en 17, mais présence d'un oxygène cétonique en 11) se transforme par réduction en dérivés principalement du type 5α (dérivés de l'androstane).

— Les corticostéroïdes hormonaux (chaîne cétolique en 17 β) donnent par réduction, comme nous l'avons vu, des dérivés, principalement de la série du prégnane (5β) ; la formation prédominante de dérivés du prégnane ou de

l'étiocholane (5 β) à partir de stéroïdes primitivement porteurs d'un groupement cétone $\alpha\beta$ non saturé dans le noyau A, implique l'existence au départ d'une chaîne latérale en 17. D'autre part, il est vraisemblable que la dégradation de la chaîne latérale ne se fait qu'après la réduction du système one-3- Δ 4. En effet, à supposer qu'une scission oxydative de cette chaîne latérale intervienne en tant que toute première étape du catabolisme, il se formerait intermédiairement un composé 17-céto, lequel aurait un comportement différent quant à la réduction de son groupement one-3- Δ 4 : soit formation prédominante de dérivés 5 α (si présence d'un oxygène en 11), soit formation de quantités équivalentes de composés 5 α et 5 β (si absence d'un groupement oxygéné en 11). Ainsi la dégradation de la chaîne latérale ne peut intervenir que secondairement une fois faite la réduction du système one-3- Δ 4 ; d'où la production, après scission de la chaîne latérale, de stéroïdes à noyau A saturé portant le plus souvent un hydroxyl en 3 et une fonction cétone en 17.

Le catabolisme de la chaîne latérale en 17 a été étudié au cours des mêmes travaux que ceux mentionnés ci-dessus concernant le système one-3- Δ 4, par SCHNEIDER d'une part, HECHTER et coll. de l'autre. SCHNEIDER, faisant incuber en milieu tamponné de la cortisone en présence de coupes de foie de rats à 38°, constate après 3 heures d'expérience une disparition du stéroïde de l'ordre de 56,8 % de la quantité initiale, quand mesurée par la réaction de PORTER et SILBER (chaîne 17-21-diol-20-one) et de 37,8 % quand mesurée par la technique au périodate de CORCORAN et PAGE. HECHTER, par la méthode de perfusion de foie de rats, trouve un catabolisme de la cortisone du même ordre de grandeur, qu'il soit mesuré par la réduction du bleu de tétrazolium ou par le périodate. De toutes façons, l'activité dégradante est ici moins marquée que pour le groupement one-3- Δ 4 (dont 83,3 % seraient réduits après trois heures, suivant SCHNEIDER).

Incubation du comp. E avec des coupes de foie (d'après SCHNEIDER) :

	<i>U.V. à 240 m_{μ}</i>	<i>U.V. à 280 m_{μ} dans SO_4H_2</i>	<i>Porter- Silber 420 m_{μ}</i>	<i>Périodate 580 m_{μ}</i>
E initiale	0,252	1,032	0,329	0,119
E finale	0,042	0,253	0,142	0,074
Dégradation %	83,3	75,5	56,8	37,8
Dégradation en gammas/mgr. de tissu	3,3	3,0	2,3	1,5

(E = densité optique. Les chiffres indiqués correspondent aux moyennes de plusieurs expériences).

Elle est cependant importante quant on l'apprécie par la méthode de PORTER et SILBER, mais moins quand on l'apprécie par l'acide périodique. La différence pourrait s'expliquer au moins en partie en faisant intervenir une réduction du — CO en 20, pour former une chaîne α -glycol-CHOH-CH₂OH, qui est formaldéhydogénique. Notons que ce processus de réduction peut ne pas s'arrêter là et aller jusqu'à la formation de chaînes latérales — CHOH — CH₃ qui ne réagissent pas avec l'acide périodique. Cependant, dans les 37,8 % de dégradation mesurée par l'acide périodique, il faut faire la part, comme nous l'avons vu, de la scission oxydative pure et simple de la chaîne latérale pour obtenir des composés en C19, porteurs en 17 d'une fonction cétone.

La formation de 17-cétostéroïdes à partir des corticostéroïdes en C21 n'a pu être vérifiée expérimentalement par SCHNEIDER et HECHTER, mais elle paraît démontrée par les travaux *in vivo* de DORFMANN et coll.

Administrant par exemple 500 mg. d'acétate d'hydrocortisone par jour pendant cinq jours, par voie orale, à un malade présentant une sclérodermie périphérique, DORFMAN recueille les métabolites suivants, dans les urines collectées pendant la durée du traitement (quantités exprimées en pourcentages de la quantité de comp. F-Ac administré) :

Tétrahydro-E	}	1,4 %
Tétrahydro-F		
Comp. F		0,63 %
Comp. E		0,38 %
Étiocholane-3 α -11 β -diol-17-one	}	1,75 %
Δ9-11-étiocholène-3 α -ol-17-one		

(ces deux composés sont absents dans les urines contrôlées avant traitement).

11 β -hydroxy-androstérone	0,1 %
Δ9-11-androsténolone	
Étiocholane-3 α -ol-11-17-dione	0,69 %
11-céto-androstérone	traces
Étiocholane-3 α -ol-17-one	absent.

On voit qu'à côté des composés en C21 tétrahydro, les composés en C19, 17-céto, constituent une partie fort importante des métabolites urinaires de l'hydrocortisone administrée (et encore n'a pas été étudiée la fraction non cétonique de l'extrait neutre après séparation éther de pétrole-méthanol aqueux et séparation de Girard).

L'étiocholanolone et l'androstérone, métabolites de la testostérone, présentes dans les urines de contrôle en grande quantité, avant traitement, ne sont pas retrouvées après trai-

tement. Ce fait est également constaté après administration de cortisone.

En résumé, d'après DOREMAN et coll., on retrouve dans l'urine, après acétate de cortisone ou d'hydrocortisone à fortes doses per os :

Etiocholane-3 α -11 β -diol-17-one	}	prédominants
Δ 9-11-étiocholène-3 α -ol-17-one		
Etiocholane-3 α -ol-11-17-dione		quantité moyenne
11 β -hydroxy-androstérone	}	faible quantité
Δ 9-11-androsténolone		

(étiocholanolone et androstérone absentes).

Cette augmentation importante de métabolites urinaires dosables sous le vocable de 17-cétostéroïdes, faisant suite à l'administration importante de comp. E-Ac ou de comp. F-Ac, prête à discussion ; F. D. GRECO insiste sur le fait que seuls normalement les corticostéroïdes 17-hydroxylés peuvent se conduire comme des précurseurs des 17-cétostéroïdes urinaires. L'hydroxyl en 17 confère à la chaîne latérale une certaine fragilité vis-à-vis des oxydants, qui la scindent plus facilement du noyau stéroïde (en particulier on peut obtenir des composés 17-cétostéroïdes à partir de la cortisone, au laboratoire, en faisant agir l'acide périodique). Chez un organisme normal, les acétates de désoxycorticostérone, de comp. A, de corticostérone, ne peuvent donner une augmentation des 17-C.S. urinaires. Ceci a un certain intérêt. Nous avons vu que dans les conditions physiologiques les corticostéroïdes, effectivement secrétés dans le sang par la glande corticosurrénale, sont représentés en majeure partie par les 17-hydroxycorticostéroïdes, en particulier par le comp. F. Il est raisonnable de supposer dès lors que les 17-C.S. urinaires dans les conditions physiologiques reflètent partiellement l'activité sécrétoire glyco-corticoïde elle-même.

Il semble que l'on ait un peu trop opposé le dosage des 17-C.S. urinaires et celui des 11-oxystéroïdes urinaires. On a voulu d'abord que les 17-C.S. urinaires — que l'on a baptisés improprement « androgènes » alors qu'une bonne partie d'entre eux est dépourvue de toute activité testable biologiquement — symbolisent une activité androgénoprotéique pure, indépendante de la fonction protéinoglucidique incarnée par les « 11-oxystéroïdes ».

En fait, les 17-cétostéroïdes urinaires peuvent être rapportés à trois origines :

1. Sécrétion androgène d'origine testiculaire — testostérone — correspondant aux 17-C.S. du type 3 α ol (androstérone étiocholanolone).

2. Sécrétion androgène d'origine surrénale — nature exacte inconnue — correspondant aux 17-C.S. type 3 β ol (dérivés de l'isoandrosterone et de la déhydroisoandrosterone caractérisée par la réaction de PATTERSON).

3. Sécrétion glycocorticoïde, d'origine authentiquement surrénale, correspondant aux 17-C.S. urinaires portant en 11 un oxygène alcoolique ou cétonique ou une double liaison aboutissant au carbone 11 (Δ 9-11).

Or actuellement, il est possible de séparer chacun de ces trois groupes des 17-C.S. urinaires grâce à la chromatographie sur colonne d'alumine, procédé en passe de rentrer dans la pratique courante au laboratoire de biologie clinique ; ainsi l'on peut interroger plus sûrement chacune des trois fonctions : on voit, dans ce domaine, comment on est pratiquement amené, quand les moyens techniques le permettent, à faire éclater ces dosages de groupes pour pouvoir retirer, ne fut-ce que sur le plan clinique, des renseignements plus précis. Pratiquement, on peut penser que, dans certains cas, il doit y avoir des variations dépendantes des 17-cétostéroïdes et des 11-oxystéroïdes urinaires : ainsi, un syndrome de CUSHING pourrait s'objectiver biologiquement autant par une augmentation du taux des 11-oxystéroïdes urinaires que par une élévation de la fraction 3^e des 17-C.S.

En fait, il faut noter que le comp. F, bien que représentant le plus important de la sécrétion interne corticosurrénale, n'est pas le seul corticostéroïde sanguin. La corticostérone intervient en quantités non négligeables. Or celle-ci n'est pas précurseur des 17-C.S. Des changements dans les proportions relatives de ces deux constituants de la sécrétion interne corticosurrénale se traduiraient par des modifications indépendantes des proportions d'excrétion des 17-C.S. et des corticoïdes urinaires ; ainsi une augmentation de la sécrétion interne de corticostérone se traduit par un accroissement des corticoïdes formaldéhydrogéniques et réducteurs dans l'urine et ne modifie par le taux des 17-C.S. ou même le diminue. Les variations indépendantes des corticoïdes formaldéhydrogéniques ou réducteurs et des 17-C.S. vues au cours de certaines maladies pourraient être attribuées à des changements d'ordre qualitatif (et non pas seulement quantitatif) dans la composition de la sécrétion surrénale.

Mais peuvent intervenir ici encore d'autres facteurs, qui viennent d'autant mieux compliquer le problème qu'ils sont extra-surrénaux. HABEEB BACCHUS a étudié les facteurs susceptibles d'influencer la vitesse de scission oxydative de la chaîne latérale de la cortisone, au moyen d'une technique in vitro semblable à celle de SCHNEIDER : cet auteur constate que ni l'acide ascorbique, ni l'atmosphère d'azote, ni le

cyanure de potassium ajoutés au milieu in vitro n'influent sur cette vitesse de scission : la production de 17-cétostéroïdes reste inchangée ; mais la vitamine C, à condition qu'elle ait été administrée in vivo, a la propriété de diminuer la capacité du foie à cataboliser cette chaîne latérale en 17 ; en somme, tout se passe comme si cette vitamine pouvait maintenir la structure 17, 21-diol-20-one de la cortisone. L'inaptitude de l'acide ascorbique ajouté aux préparations in vitro à maintenir cette structure, implique la nécessité d'un processus vital préalable, d'ailleurs inconnu (incorporation de la vitamine dans un coenzyme ?). Les observations recueillies chez l'animal carencé en vitamine C montrent une inaptitude du foie de l'animal scorbutique à maintenir la structure — C(OH) — CO — CH₂OH et par suite une production accrue de composés en C19 ; l'addition in vitro de vitamine C ne corrige pas le phénomène.

Ces faits sont corroborés par les expériences in vivo. La réalisation d'une hypervitaminose C par administration d'acide ascorbique à une rate surrénalectomisée traitée par la cortisone, se traduit par :

- Un accroissement des corticoïdes urinaires formaldéhydogéniques et réducteurs.

- Diminution des 17-C.S.

- Un niveau se maintenant élevé des glycocorticoïdes sanguins déterminés par voie chimique (BAYLISS et STEINBECK) ou biologique (effet éosinopénique).

KAYAHAN faisant des expériences semblables chez l'homme constate que des doses massives de vitamine C :

- accroissent les corticoïdes urinaires ;

- diminuent les 17-C.S.

Ces résultats s'inversent en cas de scorbut (diminution des F.C. et des P.R.L. ; augmentation des 17-C.S.), du moins à une phase de carence commençante et encore réversible : à la phase terminale on a évidemment une chute simultanée des corticoïdes et des 17-C.S. par lésions avancées et grande insuffisance de la surrénale.

Toutes ces notions montrent la complexité du problème des corticoïdes urinaires. Même si l'on disposait de méthodes de dosage techniquement parfaites, on ne pourrait en inférer à partir des simples données numériques recueillies, de l'activité corticosurrénale sans réserves. Nous avons vu intervenir la notion de variations qualitatives dans la sécrétion interne corticosurrénale. Nous avons vu intervenir divers mécanismes tissulaires extra-surrénaux, intermédiaires entre l'étape primaire surrénale et l'étape finale urinaire ; les effets

du métabolisme tissulaire des corticostéroïdes hormonaux s'intriquent avec ceux de l'activité sécrétoire corticosurrénale elle-même ; les corticoïdes urinaires ne représentent que la résultante de l'activité d'un ensemble de processus biologiques dont la corticosurrénale ne fournit qu'un élément (1).

D'autre part, on n'aura pas manqué de relever (voir page 58, résultats de l'exemple emprunté à DORFMAN) la récupération extrêmement faible de métabolites urinaires caractérisables, parce qu'en quantités suffisantes, à la suite d'une administration massive d'hormone per os. L'ensemble des métabolites caractérisés par DORFMAN dans l'exemple correspond à peine à 5 % de la quantité totale d'acétate de comp. F administré. Il est légitime de se demander ce que deviennent les 95 % restants. Certainement, d'autres voies d'élimination (biliaire, fécale) seraient à inventorier.

(1) SAYERS n'a-t-il pas suggéré que les corticoïdes urinaires, en l'absence de toute autre donnée, ne pouvaient être considérés comme des index adéquats de la fonction surrénale ?

CHAPITRE V

Les corticoïdes urinaires

Le caractère aveugle et hasardeux des méthodes de dosage repose sur l'insuffisance de nos connaissances de la nature des corticoïdes urinaires. On commence actuellement à avoir des notions moins vagues sur la nature de certains d'entre eux. Pendant longtemps, on s'est contenté de suppositions dont le caractère confus se reflétait dans la terminologie même ; comment définir avec le moins d'ambiguïté possible le terme « corticoïdes » ? DEVIS a tenté d'éclaircir cette question :

« On emploie indifféremment les termes de cortico-stéroïdes et de corticoïdes. Nous suggérons d'appeler corticostéroïdes les stéroïdes effectivement extraits des surrénales et doués ou non des propriétés physiologiques spécifiques de ces glandes ; le terme corticoïde serait réservé aux stéroïdes répondant aux conditions suivantes :

— Être issus d'un liquide ou d'un tissu autre que le tissu surrénalien lui-même.

— Être certainement en rapport avec l'activité des cortico-surrénales.

— Répondre aux tests biologiques spécifiques.

— Être doués de propriétés chimiques ou physico-chimiques caractéristiques (nous ne disons pas spécifiques) des corticostéroïdes eux-mêmes ».

DEVIS rapporte encore, dans la même publication, que « pour le dosage chimique des corticoïdes urinaires ainsi définis, on a précisément cherché des propriétés chimiques communes à un ensemble de substances répondant, d'autre part aux tests biologiques adéquats et à l'activité cortico-surrénale. Aucune des propriétés communes trouvées n'est particulièrement adéquate de sorte que l'on ne possède jus-

qu'ici que des index imparfaits, mais non des mesures précises des corticoïdes urinaires ».

La connaissance de certains processus cataboliques tissulaires concernant les corticostéroïdes hormonaux permet de comprendre le sens de cette réserve. Nous avons vu comment les groupements fonctionnels responsables de telle propriété chimique ou de telle activité biologique se trouvaient transformés, voire supprimés, après passage des corticostéroïdes dans les tissus, en particulier dans le foie ; les catabolites de ces corticostéroïdes apparaissent dans l'urine privés des propriétés chimiques ou biologiques qu'on leur a prêtées et qui n'appartiennent, en réalité, qu'à leurs précurseurs cortico-surrénaux.

La connaissance des corticoïdes urinaires a enregistré quelques progrès par l'isolement, à partir de l'urine même, et la caractérisation physique et chimique de certains composés, grâce à l'emploi de techniques de plus en plus fines. L'inventaire des stéroïdes urinaires, qui se poursuit toujours, fait apparaître une notable proportion de 17-cétostéroïdes dont l'isolement a fait l'œuvre de DOBRINER. Ces composés sont hautement représentatifs de l'activité normale ou pathologique de la surrénale (nous faisons ici abstraction des 17-C.S. d'origine gonadique). Rappelons qu'ils reflètent l'activité androgéno-protéique de la surrénale (17-céto type β), mais aussi l'activité protéino-glucidique (17-C.S. oxygénés en 11). Par définition, nous excluons du terme de « corticoïde » les molécules en C 19 (17-céto ou 17-hydroxy). Dans ce terme, nous ne comprenons que les stéroïdes en C21 en rapport avec l'activité cortico-surrénale — les stéroïdes en C21 provenant du métabolisme de la progestérone formant encore un groupe à part.

LA « CORTIN FRACTION » URINAIRE

De multiples recherches utilisant des tests biologiques ont montré que l'urine contient normalement des substances à propriétés cortico-mimétiques constituant ce que l'on a appelé « la cortin fraction » urinaire. Ainsi, par exemple, VEXNING, KAZMIN et BELL, dès 1946, utilisant le test de glycogénie hépatique chez la souris surrénalectomisée, rapportent que l'homme normal excrète de 45 à 77 gammas de matériel à activité glycogénique exprimée en comp. E. Des travaux plus récents ont été effectués pour inventorier cette cortin fraction urinaire.

MASON et SPRAGUE isolent de l'urine d'un malade atteint de syndrome de Cushing le comp. F, extrait également de

l'urine de rhumatisants traités par de fortes doses d'A.C.T.H. ou de malades après stress chirurgicaux. Des malades traités par l'acétate de cortisone éliminent de faibles traces de cette hormone inchangée, contaminée par de faibles traces de comp. F. MASON pense déjà qu'il peut y avoir réduction physiologique du groupement 11-céto en 11-hydroxy.

SCHNEIDER étudie l'urine normale de sujets mâles adultes au moyen de techniques très sélectives : extraction à pH 1 ; séparation benzène-eau ; séparation de la fraction cétonique (réactif de Girard) ; chromatographie sur silicate de magnésium-célite. Cet auteur parvient à isoler 5 composés cristallisés du type cortico-surrénal dont l'un est identifié avec la 11-déhydro-17-hydroxycorticostérone : la moyenne d'excrétion est de l'ordre de 55,3 gammas par litre, soit environ 82 gammas par jour pour une diurèse moyenne de 1.500 ml. ; ces chiffres méritent d'être rapprochés de ceux qu'obtient VENNING avec sa méthode biologique. SCHNEIDER note que cette cortisone est excrétée en plus grande partie — soit 86 % — sous forme libre, non conjuguée. D'autres composés (obtention = 6 mg. pour 1.000 litres d'urine), en particulier les composés de réduction type tétra-hydro, sont excrétés sous forme conjuguée. Toutefois nous remarquons que SCHNEIDER ne dispose pour tout procédé d'hydrolyse que de l'acidification à froid à pH 1. De plus, tous ces travaux nécessitent l'extraction de très grandes quantités d'urines pour pouvoir obtenir quelques milligrammes de composés cristallisés.

BURTON, ZAFFARONI et KEUTMAN extraient des quantités d'urine beaucoup plus faibles (échantillon de 72 heures) et font le fractionnement de l'extrait lipidique neutre par chromatographie sur papier : repérage des stéroïdes par le chlorure de tri-phényl-tétrazolium (T.P.T.Z) ; élution des taches et identification des composés. Ces auteurs retrouvent le comp. E et le comp. F ; leur élimination journalière correspond pour chacun à environ 15 à 40 gammas, chiffres à rapprocher de ceux de VENNING, qui trouve que l'activité glyco-génique totale des extraits urinaires normaux correspond à une élimination de l'ordre de 25 à 85 gammas de glyco-corticoïdes actifs par jour.

SCHNEIDER, qui continue à étudier la fraction libre des corticoïdes urinaires, retrouve un taux moyen de 53,1 gammas de cortisone par litre, ce qui correspond bien à ses propres résultats antérieurs et à ceux donnés par BURTON et coll. Cette présence, prédominante semble-t-il, de la cortisone dans la cortin fraction est soulignée par LIBERMANN étudiant l'urine humaine après traitement par cortisone ou A.C.T.H., par MASON qui isole le comp. E de l'urine de malades traités par l'acétate de cortisone (mais qu'il ne peut récu-

pérer à partir d'urine post-opératoire ou après traitement à l'A.C.T.H.). La concentration du comp. F dans la fraction libre des corticostéroïdes urinaires est notablement plus faible, au-dessous certainement des valeurs de 15 à 40 gammas par 24 heures estimées par ZAFFARONI et coll.

Ainsi, la cortin fraction urinaire est constituée avant tout par le comp. E, à un moindre degré par le comp. F. Ces deux substances s'y trouvent sous forme essentiellement libre, non conjuguée. La corticostérone et la 11-déhydrocorticostérone n'ont pu être caractérisées, même par la technique extrêmement fine de BURTON et coll. Cependant nous notons que ROMANOFF, WOLFF, CONSTANDSEE, PINCUS, fractionnant leur extrait urinaire par chromatographie sur gel de silice, puis sur papier, font allusion à la présence possible de corticostérone ; la concentration de ce composé dans l'urine serait toutefois incomparablement plus faible que celle du comp. E.

La cortin fraction possède également une activité minéralocorticoïde que l'on a, en général, tenté de chiffrer en équivalents de D.O.C.A. par 24 heures ; l'élimination journalière de composés à activité minérale est faible. DEMING et LUETSCHER utilisent un test de rétention du sodium dont la sensibilité est de l'ordre de 10 gammas de D.O.C.A. ; ils constatent une élimination accrue par rapport à la normale de facteur sodium-retenant dans certaines affections (néphroses, œdèmes cardiaques). CHART et SHIPLEY, utilisant le test de KAGAWA (sensible à 2 gammas de D.O.C.A.), étudient les variations de l'élimination de facteurs sodium-retenant au cours de la grossesse : ils constatent une nette augmentation de l'élimination journalière de matériel minéralocorticoïde à mesure que progresse la gestation, cette élimination devenant anormalement élevée en cas de toxémie. SINGER et VENNING trouvent des résultats superposables à ceux de DEMING et LUETSCHER.

Si l'existence d'une sécrétion urinaire de minéralocorticoïdes a pu être prouvée par ces études biologiques, on n'a pas de connaissances exactes quant à la nature de cette sécrétion. Il ne semble pas qu'elle soit constituée par de la désoxycorticostérone ; cette substance n'a pas été trouvée sur les chromatogrammes d'extraits urinaires (BURTON). Il est possible que l'aldostérone elle-même passe, en partie du moins, dans l'urine (ces faits ne doivent pas surprendre si l'on se réfère à notre développement sur la sécrétion interne de minéralocorticoïdes). Rappelons que dès 1952, BUSH, de COURCY et GRAY décèlent dans l'extrait urinaire, par chromatographie sur papier, à côté de la cortisone et de l'hydrocortisone, « deux stéroïdes dont les valeurs de Rf correspondent à deux stéroïdes similaires présents dans la fraction amor-

phe du cortex surrénal ». Les stéroïdes inconnus étaient présents en plus grande quantité dans l'urine de grossesse que dans l'urine de femme non enceinte et d'homme normaux.

Enfin, COPE et LIAURADO auraient très récemment identifié l'aldostérone dans l'urine.

CORTICOIDES LIBRES ET CORTICOIDES CONJUGUÉS

Au fur et à mesure qu'ont progressé les recherches sur les stéroïdes urinaires, est apparue une notion d'importance capitale : à savoir l'existence de stéroïdes urinaires sous forme libre, liposolubles, et de stéroïdes conjugués, engagés dans des complexes à forte hydrosolubilité, non extraits par les solvants organiques. Pour pouvoir récupérer un corticoïde conjugué, il faut libérer la molécule stéroïde liposoluble et pour cela hydrolyser le complexe. Après avoir démontré l'inefficacité de l'hydrolyse par simple acidification à pH 1 à froid, après avoir supposé, plutôt que démontré, l'impossibilité de mettre en pratique l'hydrolyse acide à chaud — procédé jugé trop brutal pour les corticoïdes, bien qu'admis pour les 17-C.S. — on s'oriente vers le procédé optimum, l'hydrolyse enzymatique : celle-ci a l'avantage d'être très poussée, de ménager les corticoïdes libérés et de montrer quelle est la nature de la conjugaison : glycuro-conjugaison (β -glycuronidase), à un moindre degré sulfoconjugaison (sulfatase).

L'utilisation de la glycuronidase en particulier, d'origine bactérienne ou splénique, a permis d'accroître sensiblement les rendements quantitatifs en corticoïdes urinaires. Elle a permis de se faire une idée plus exacte de l'importance numérique de certains métabolites urinaires de provenance cortico-surrénale, plus spécialement des dérivés tétra-hydro.

Les comp. E et F retrouvés dans l'urine constituent probablement la plus grande partie de la fraction libre des corticoïdes urinaires. Ces composés biologiquement actifs ont conservé leur groupement one-3- Δ 4 et sont théoriquement peu aptes à la glycuro-conjugaison. Par contre, les dérivés 3 α -hydroxy se prêteraient beaucoup mieux à la glycuro-conjugaison : cas général pour les stéroïdes urinaires (formation de glycuronide de prégnandiol, des complexes glycuroniques avec les « androgènes »). SCHNEIDER qui n'obtenait que 6 gammas par litre de tétra-hydrocortisone par extraction de l'urine à froid à pH 1, récupère 214 gammas par litre du même composé après utilisation de glycuronidase splénique.

Cette tétra-hydrocortisone vue la première fois par SCHNEIDER en faible quantité est un corticoïde urinaire très

important. Cet auteur pensait déjà qu'elle doit être considérée comme un constituant normal de l'urine ; elle dériverait probablement du métabolisme du comp. F (l'éventualité d'une réduction du système one-3- Δ 4 a été envisagée précédemment). Il faut remarquer que ce composé n'est pas inclus dans la liste des stéroïdes isolés du tissu cortico-surrénal ; les stéroïdes à noyau A réduit isolés du cortex sont dérivés de l'allopregnane et non du pregnane.

KINSELLA et coll. ont isolé de nouveau et obtenu cristallisée la tétrahydrocortisone en partant de grandes quantités d'urine incubée en présence de β -glycuronidase bactérienne, puis extraite au chloroforme ; après fractionnement de l'extrait par partage benzène-eau, les auteurs séparent la fraction cétonique par le réactif T de Girard et la chromatographient sur silicate de magnésium-célite : l'identification des cristaux est faite par les procédés habituels. Les mêmes auteurs entreprennent d'étudier l'élimination urinaire journalière de la tétra-hydro-cortisone chez des sujets humains normaux et dans des cas pathologiques. L'extrait lipidique neutre urinaire obtenu après hydrolyse enzymatique préalable est fractionné par chromatographie sur papier ; les taches de tétra-hydrocortisone, révélées par la réduction de l'hydroxyde d'argent ammoniacal sont éluées par le méthanol, la tétra-hydro-cortisone est dosée en solution méthylique par la réaction de PORTER et SILBER à la phényl-hydrazine (la tétra-hydro-cortisone a, en effet, conservé la chaîne latérale 17,21-dihydroxy-20-one caractéristique). KINSELLA et coll. trouvent ainsi une moyenne d'élimination normale journalière de 4,5 mg. de tétra-hydro-E (nombre de dosages 25 ; chiffres extrêmes 2,0 et 7,4 mg.). Trois dosages effectués pendant la grossesse (l'âge n'est pas précisé) donnent les chiffres de 2,2 mg./24 heures, 2,4 mg./24 heures, 2,2 mg./24 heures : il n'est donc pas question ici d'élimination accrue. Deux cas d'hypopituitarisme ont donné chacun 0,4 mg./24 heures ; un syndrome de Cushing donne 12,1 mg./24 heures. Ces auteurs constatent, en plus de la tétra-hydro-cortisone, une récupération accrue de comp. E et F de 100 à 200 gammas par jour, soit trois à quatre fois plus que sans hydrolyse enzymatique : ce qui signifierait que la majorité des comp. E et F seraient éliminés sous forme conjuguée ; en réalité, ceci va à l'encontre de ce qui est plus généralement admis. KINSELLA ne retrouve pas de tétra-hydro-F. Il ne pense pas que ce dernier ait pu contaminer les spots assignés au tétra-hydro-E.

On peut considérer que la tétra-hydro-cortisone est le principal constituant, pondéralement, de l'ensemble des corticoïdes urinaires dosés par la phényl-hydrazine (voir techniques de NELSON et coll., de REDDY et coll.).

BURTON, KEUTMAN, WATERHOUSE administrent de l'acétate de cortisone, par voie intra-musculaire, à des sujets nor-

maux ou Addisonniens et étudient la conversion en stéroïdes cétoliques urinaires. Ils utilisent deux méthodes d'extraction :

— Extraction de corticoïdes libres (extraction continue 48 heures à pH 1) .

— Extraction des corticoïdes totaux (conjugués +. libres) : emploi d'une glycuronidase splénique.

Sous l'influence du traitement au comp. E-Ac, ils assistent à une augmentation des corticoïdes de la fraction libre portant sur le comp. E, sur le comp. F (provenant vraisemblablement d'une réduction du comp. E administré) et sur la tétra-hydrocortisone libre. L'augmentation des corticoïdes conjugués est proportionnellement plus importante, portant principalement sur les glycuronides de tétra-hydrocortisone et d'un composé supposé être le tétra-hydro-F.

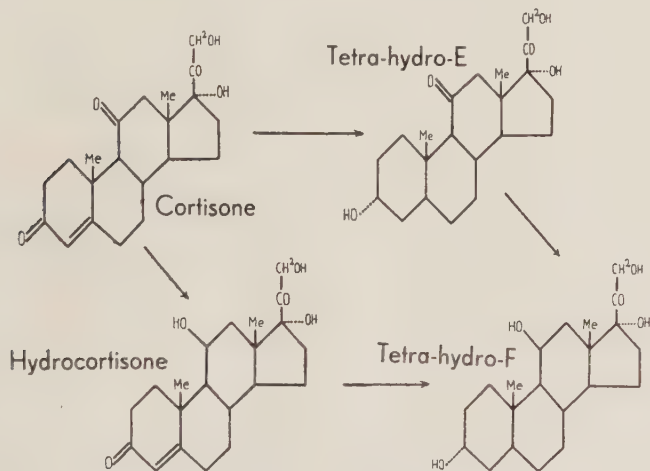


Schéma probable du métabolisme de la cortisone
(d'après BURTON).

Le très gros travail de DE COURCY et coll. permet de se faire une idée du mode de répartition des différents corticoïdes urinaires entre les diverses fractions, libre ou conjuguée.

Ces auteurs appliquent à une même urine plusieurs procédés d'extraction :

— Un échantillon d'une urine de 24 heures est extrait au chloroforme à pH 7 : ainsi sont enlevés les stéroïdes libres directement solubles au pH de l'urine (fraction dite CN).

— Une partie de l'échantillon urinaire extrait à pH 7 est amenée à pH 1 et extraite au chloroforme : ainsi sont enlevés les stéroïdes solubles à pH 1 (fraction dite a-1). Les auteurs se sont aperçus de la faible efficacité de cette extraction à pH 1 : la fraction obtenue est très pauvre en stéroïdes. Aussi ont-ils combiné les extraits CN et a-1 ; on a ainsi la fraction A-1 correspondant pratiquement aux stéroïdes libres.

— Une autre partie de l'échantillon urinaire extrait à pH 7 est soumise à une réextraction prolongée de 24 heures au chloroforme après avoir été ajustée à pH 1 : fraction dite A-2 correspondant aux stéroïdes extraits par acidification prolongée, après 24 heures.

— Une dernière partie de l'échantillon urinaire, extrait déjà à pH 7, est soumise à l'hydrolyse par la glycuronidase et extraite : ainsi sont enlevés les stéroïdes primitivement conjugués à l'acide glycuronique : fraction E.

Chaque composé est isolé et identifié par chromatographie sur papier. L'estimation des $\Delta 4$ -3-cétostéroïdes, semi-quantitative, applique la fluorescence jaune dans l'ultra-violet après traitement par la soude (Bush) ; caractérisation de l' α -kétol par le T.P.T.Z.

Dans chaque urine examinée, la majeure partie des stéroïdes décelés était présente dans les fractions A-1 (stéroïdes libres) et E (stéroïdes conjugués) ; les dénominations par lettre reproduites ici sont celles qui sont employées par les auteurs pour désigner les composés sur les chromatogrammes.

Sont invariablement présents dans toute urine :

- | | | |
|--|---|---------------------|
| — le comp. E | } | <i>Fraction A-1</i> |
| — le comp. F | | |
| — le comp. X4 | | |
| — le comp. R4 (tétra-hydrocortisone) : | | <i>Fraction E</i> |

Cependant, d'autres corticoïdes sont présents dans certains extraits lipidiques urinaires de façon contingente :

- | | | |
|-----------------------------------|---|-------------------|
| — le comp. R5 (di-hydrocortisone) | } | <i>Fraction E</i> |
| — les comp. R3-R6-R7 | | |

Ces composés R3-R7 sont réducteurs (α -kétol) mais ont perdu le groupement one-3- $\Delta 4$. Le comp. R3 serait vraisemblablement le tétra-hydro-F dont la réalité a été démontrée par les travaux de DOBRINER.

- les comp. X1-X2-X3 : non kétol mais ayant conservé le groupement one-3- $\Delta 4$: *Fraction A-1*.
- le comp. X6 : non α -kétol mais ayant conservé son groupement one-3- $\Delta 4$: *Fraction E*.

En analysant les résultats de ces auteurs, on note qu'à peu d'exceptions près, la fraction A1 (stéroïde libre) contient plus de 78 % du contenu urinaire total de substance X4, de cortisone, de cortisol (comp. F) et moins de 25 % du total des stéroïdes réducteurs ne possèdent pas le groupement one-3- Δ 4 (R3-R7). De plus, seulement dans un très petit nombre de cas, on trouve plus de 30 % du total des composés X4, F et E dans les fractions autres que A1. Il apparaît de ces résultats que la plupart des stéroïdes corticosurrénaux connus actifs et le composé one-3- Δ 4 inactif X4 sont extraits de l'urine à pH 7 ou immédiatement après acidification à pH 1. Dans à peu près tous les cas aucune fraction additionnelle de composé X4 ou de composé F n'a pu être obtenue après acidification prolongée de 24 heures ou après hydrolyse diastasique. La cortisone obéirait moins bien à cette règle et des quantités plus grandes ont pu être extraites après traitement par la glycuronidase. Cependant, en règle générale, il est intéressant de noter que 90 % des deux composés nobles de la cortin fraction sont extractibles au pH même de l'urine (SCHNEIDER disait 86 %). Ils s'y trouvent probablement à l'état libre non conjugué ou peut-être même à l'état de « conjugués extrêmement labiles ». Ceci concorde avec les observations de VENNING qui a remarqué que la glycuronidase augmente le rendement en corticoïdes urinaires récupérables, mais n'augmente que peu ou pas l'activité glycogénique de l'extrait lipidique urinaire.

En revanche, la fraction E (glycuro-conjugués) contient la majeure partie des stéroïdes ayant perdu leur système résonnant du noyau A ; il s'agit de dérivés du prégna-
ne, réducteurs (si conservation de l' α -céto) ou non. Que la glycuro-conjugaison semble facilitée par la réduction préalable du groupement one-3- Δ 4 en 3 α -hydroxy-prégna-
ne correspondants, cela peut être postulé (SCHNEIDER), mais non considéré comme condition nécessaire. Les comp. E et F semblent eux-mêmes pouvoir se conjuguer avec l'acide glycuronique. D'autre part, notons le comportement particulier du composé X6 qui, bien qu'ayant conservé son groupement one-3- Δ 4, se trouve essentiellement dans la fraction E.

Les corticoïdes ne possédant ni le groupe Δ 4-3-céto, ni la chaîne latérale α -céto, n'ont pu être décelés au cours de ce travail. Un grand nombre de stéroïdes formaldéhydrogéniques et acétaldéhydrogéniques qui sont des métabolites possibles des hormones corticosurrénales, n'auraient pu être détectés. Leur libération par différents procédés hydrolytiques reste à étudier bien qu'il soit probable que toutes les substances décrites dans ce travail soient formaldéhydrogéniques, à l'exception de la substance X6. Ces auteurs font remarquer, comme le faisait déjà MARRIAN, qu'il

ne saurait exister une méthode unique pour l'estimation des corticoïdes urinaires permettant d'apporter des renseignements complets pour l'exploration de la fonction corticosurrénale.

*Stéroïdes réducteurs totaux en gammas par 24 h.
dans les extraits urinaires de 10 hommes sains
(d'après DE COURCY et coll).*

<i>Substances</i>	<i>Moyennes</i>
Cortisone	87,5
Cortisol	37,5
E + F	122,5
R3-R7	2380
E + F + R3-R7	2908

Le schéma proposé par DE COURCY et coll. (voir page 73) ne concerne que le métabolisme du comp. F ; ici les auteurs tablent sur les données de SAMUELS et NELSON, faisant du comp. F le produit de sécrétion majeur du cortex.

Ce schéma a l'avantage de donner une vue d'ensemble sur différents aspects structuraux, dont la réalité est prouvée par des travaux analytiques ; ces aspects structuraux sont propres aux « corticoïdes urinaires » et marquent l'opposition — comme l'entendait DEVIS — avec les authentiques « corticostéroïdes ».

D'après la multiplicité des corps formés, on conçoit qu'il ne saurait exister une méthode chimique unique pour l'estimation de l'ensemble des corticoïdes urinaires permettant d'apporter des renseignements complets pour l'exploration de la fonction surrénale. Ainsi, les étapes 6 et 7 sont postulées d'après SCHNEIDER : les composés dihydro-E et tétrahydro-E sont dosables par leur pouvoir réducteur (α -cétol), par leurs propriétés formaldéhydrogéniques (α -cétol), par la réaction à la phénylhydrazine (groupement dihydroxy-acétone — $C(OH) - CO - CH_2OH$), par le bismuthate (corticoïdes 17-cétogéniques).

Les composés glycol en 17 ne sont plus dosables que par leur pouvoir formaldéhydrogénique : les 17-20-21-triol sont formaldéhydrogéniques et 17-cétogéniques.

Nous voudrions insister sur l'importance des composés 20-méthyl (étape 5 par exemple) ; leur existence a été démontrée par plusieurs travaux : rappelons en particulier que HORWITT, DORFMAN et coll. isolent du prégnandiol de l'urine

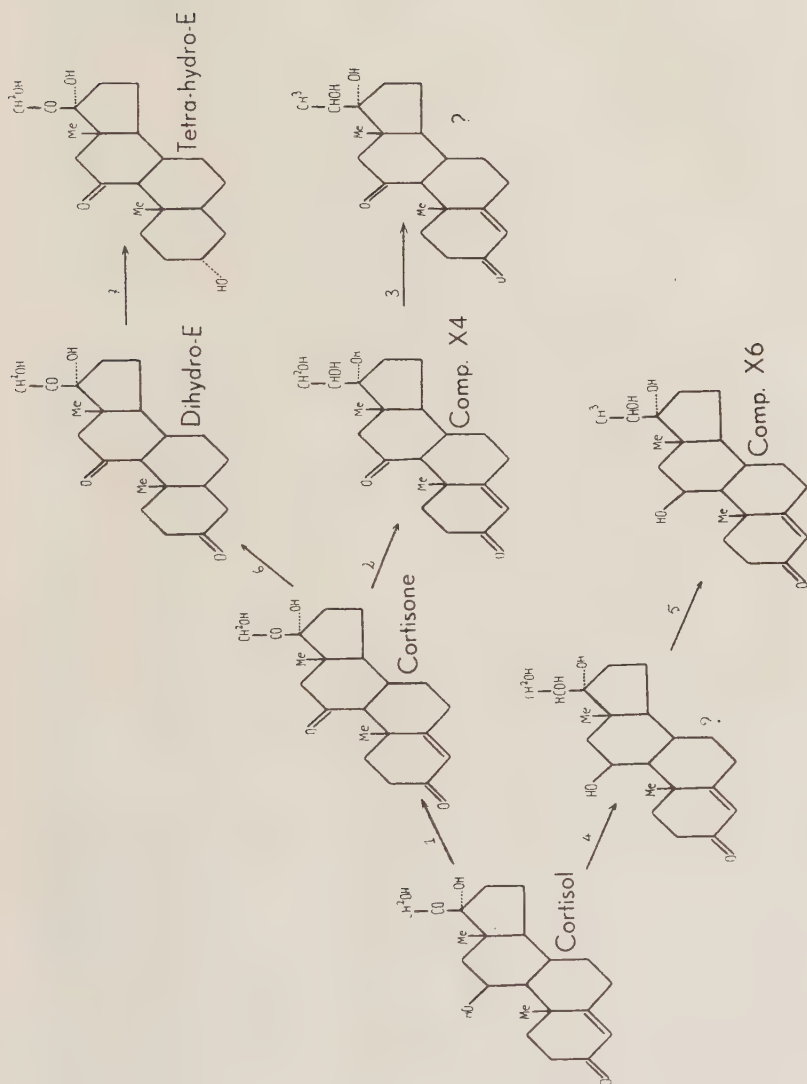


Schéma du métabolisme possible des corticostéroïdes (d'après DE COURCY et coll.).

de sujets après administration de D.O.C.A. ; MASOX isole la prégnane-3 α , 20 α -diol-11-one après administration d'acétate de 11-déhydrocorticostérone, tandis que LIEBERMANN, HARITON, STOCKEM, STUDER et DOBRNER isolent la prégnane-3 α , 17 α -diol-11, 20-dione après administration d'acétate de cortisone.

Composés 20-méthyl-stéroïdes probablement d'origine surrénale isolés de l'urine humaine (1) :

Prégnane-3 α , 17 α , 20 α -triol.
Prégnane-3 α , 17 α -diol-20-one.
5-prégnène-3 β , 17 α , 20 α -triol.
5-prégnène-3 β , 17 α -diol-20-one.
Prégnane-3 α , 20 α -diol-11-one.
Prégnane-3 α -ol-11, 20-dione.
Prégnane-3 α , 17 α -diol-11, 20-dione.

Ces composés 20-méthyl ne sont dosables ni par réduction ni par la phénylhydrazine et ne possèdent pas de propriétés formaldéhydrogéniques ; certains d'entre eux, les 17-20-dihydroxy-20-méthyl, sont dosables par la méthode de Cox : corticoïdes acétaldéhydrogéniques (oxydation périodique et caractérisation de l'acétaldéhyde formé).

Tout ceci laisse apparaître la complexité biochimique des corticoïdes urinaires. Chaque méthode de dosage dite des corticoïdes urinaires ne dose en fait qu'un certain groupe chimique de composés, et laisse échapper les autres, tant est grande la diversité des métabolites formés (composés réducteurs, formaldéhydrogéniques, acétaldéhydrogéniques, composés réagissant avec la phénylhydrazine). Chaque méthode ne dose qu'une fonction donnée ; s'il est vrai que certaines propriétés chimiques sont plus communes que d'autres, et que les données numériques des dosages les appliquant permettent une meilleure approximation d'ensemble, les résultats ne sont toujours que fragmentaires. D'autre part, on ne peut savoir si dans certains cas un chiffre normal donné par telle technique ne masque pas en réalité une modification significative des proportions relatives des constituants dosés dont la somme globale n'aurait pas changé. Il serait désirable de pratiquer, chaque fois qu'on le peut, les dosages des corticoïdes urinaires en utilisant simultanément plusieurs techniques différentes et en comparant les résultats. Telle fraction peut varier alors que telle autre semble immuable. Et encore devra-t-on se méfier chaque fois des artéfacts non stéroïdiques qui pourront venir interférer dans les résultats des dosages.

(1) En fait, il s'agit de cas spéciaux : administration de quantités importantes de cortisone pour le dernier des composés de la liste — hyperplasie surrénale ou tumeur pour les six autres (en particulier le premier).

Dosage biologique des corticoïdes urinaires

Nous n'insisterons pas sur ces techniques qui ne relèvent pas en général de la pratique clinique courante. Théoriquement, ce sont peut-être les plus sûres. La spécificité structurale à laquelle est assujettie toute activité biologique d'un corticostéroïde est une garantie. La bonne concordance des résultats obtenus par VENNING (test biologique) et de ceux des biochimistes isolant et évaluant quantitativement les comp. E et F urinaires, illustre ce fait.

Ces techniques biologiques cependant ne dosent qu'une petite partie des corticoïdes urinaires et l'élimination quantitative des composés actifs n'est peut-être pas suffisamment représentative de l'activité surrénale. De plus ces techniques sont de réalisations pratiques délicates et onéreuses ; les animaux utilisés réagissent de façon variable d'un jour à l'autre : d'où nécessité de lots importants, de traitements pré et post-opératoires, de références rigoureuses aux témoins.

Dosage biologique des glycocorticoïdes urinaires.

Il repose principalement sur l'application du glycogène-test proposé la première fois par REINECKE et KENDALL. La technique la plus récente est celle de VENNING. KAZMIN, BELL cette méthode utilise la propriété des corticostéroïdes de favoriser chez la souris surrénalectomisée le stockage hépatique du glycogène (comp. E, comp. F, comp. B, comp. A, aldostérone). Le résultat s'exprime en unités glycogéniques ; une unité correspond à l'activité de un gamma de cortisone. VENNING trouve ainsi une moyenne d'élimination de matériel à activité glycogénique correspondant à 60 gammas de cortisone par jour.

On a voulu également appliquer l'effet éosinopénique des corticostéroïdes (dont les plus actifs ici encore sont les comp. F et E). L'effet éosinopénique chez le rat surrénalectomisé (COSTE, DELBARRE, LAURENT) est proportionnel au logarithme de la dose de corticostéroïde injectée. Les résultats sont donnés en équivalents d'acétate de comp. E et les chiffres normaux d'élimination journalière sont compris entre 0,1 et 0,8 mg./24 heures.

Le dosage des minéralocorticoïdes urinaires utilise les tests de rétention sodique auxquels nous avons déjà fait

allusion (DEMING et LUETSCHER ; CHART et SHIPLEY ; SINGER et VENNING).

Le dosage chimique des corticoïdes urinaires en clinique

Le dosage des corticoïdes urinaires pose à tout le monde des problèmes difficiles à résoudre et, en fait, très différemment résolus. Le biologiste-clinicien ne peut envisager la question de la même façon que le chercheur biochimiste pur. Ce dernier n'aura à envisager que l'aspect bio-chimique du problème ; les moyens pratiques mis à sa disposition seront orientés essentiellement dans ce sens ; le chercheur se montrera très exigeant et sacrifiera tout à l'exactitude du résultat final ; la détermination qualitative ou quantitative de tel stéroïde urinaire impliquera la mise en œuvre de processus d'extraction, de fractionnement extrêmement sélectifs pour obtenir un isolement intégral. Le chercheur ne fera un dosage qu'avec les plus grandes garanties de rigueur, éliminant au maximum toute cause d'erreur. De tels travaux nécessitent en général des moyens puissants (appareillages et réactifs coûteux), supposent des séries de manipulations prenant plusieurs jours — une chromatographie sur papier prend facilement 72 heures — ; ils ne relèvent, de plus, que d'un personnel hautement spécialisé.

Au laboratoire clinique, on est obligé de tenir compte d'une foule de desiderata, qui relèvent autant des servitudes de la pratique courante que de la difficulté théorique du problème biochimique. La clinique exige du laboratoire une orientation bien spéciale ; la clinique ne tire pas tellement de renseignements d'un fait isolé, même fort rigoureux et précis ; elle préfère les études comparatives d'un grand nombre de valeurs relatives, pour en tirer des renseignements statistiques ; elle multiplie et répète fréquemment les examens. Ainsi, le dosage des corticoïdes urinaires appliqué à la clinique ne peut s'accommoder de techniques, même parfaites, demandant une ou deux semaines pour leur déroulement ; d'autre part, leur coût les mettrait hors de portée des possibilités du laboratoire clinique courant. D'où la nécessité de concilier les inconciliables ; il faut trouver des techniques de « routine », d'exécution rapide (quelques heures), donnant des résultats, certainement inexacts, mais tout de même reproductibles..., « valables dans la mesure où les

erreurs commises sont toujours les mêmes. Peu importe le chiffre obtenu pourvu que, comparé avec le suivant, il garde son sens, c'est-à-dire qu'il conserve toujours le même coefficient d'erreur ». La nécessité de simplifier au maximum les protocoles d'extraction et de fractionnement oblige à renoncer au dosage exclusif et spécifique d'un métabolite donné, et conduit à doser des ensembles de métabolites répondant en bloc à certaines propriétés chimiques caractéristiques ; il est apparu que de tels dosages caractérisant un groupe de métabolites censés représenter telle activité fonctionnelle pouvaient être préférables à des techniques dosant isolément un corps, techniques « dont la spécificité risquait d'être une limitation ».

Les techniques indiquées ci-dessous répondent à ce dernier point de vue. Elles dosent des ensembles de corticoïdes : elles sont basées sur l'application de propriétés chimiques communes à un grand nombre de ces composés. En fait, comme l'a dit DEVIS, aucun des critères chimiques employés n'est parfaitement adéquat, et sous le titre de techniques de dosage chimique des corticoïdes urinaires on ne dispose en réalité que d'index très imparfaits de ces substances.

Il n'est pas fâcheux de constater que dans certains cas, des laboratoires de biologie clinique semblent vouloir réagir contre cette solution de facilité que représentent les dosages de groupe ; un dosage de groupe, comme celui des métabolites de la progestérone, (dosage dit du prégnandiol), par la méthode de BETHOUX peut être considéré comme valable ; nous n'en dirons pas autant du dosage global des 17-cétostéroïdes urinaires qui reflètent trois activités fonctionnelles distinctes (androgènes testiculaires, androgènes surréniaux, glycocorticoïdes) : d'aucuns considèrent qu'il est avantageux de séparer les différentes fractions à signification fonctionnelle différente, pour obtenir des renseignements intéressants sur le seul plan clinique ; cette amélioration n'est obtenue qu'au prix d'une chromatographie sur colonne d'alumine, opération au long cours et par là onéreuse. Dans le domaine des corticoïdes eux-mêmes, on a été amené dans certains cas à pousser la purification des extraits — emploi de techniques chromatographiques — pour avoir des résultats moins hasardeux.

PRINCIPE DES MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DOSAGE DES CORTICOÏDES URINAIRES

Les techniques proposées ont été fort nombreuses ; le mode opératoire appliqué dans toutes un même schéma général. Pour la commodité de l'exposé, nous prendrons comme type de description les premières techniques proposées, en général les plus simples, et nous distinguerons trois temps principaux :

- L'extraction des substances à doser.
- Le fractionnement de l'extrait.
- Le dosage proprement dit des substances à doser dans l'extrait.

1^{er} Temps : Extraction des substances à doser.

L'extraction est faite par agitation de l'urine préalablement acidifiée ou non avec un solvant ou un système de solvants organiques. TALBOT extrait l'urine au chloroforme à pH 7. HEARD et SOBEL se servent d'un mélange extemporané éther-chloroforme à 4 pour 1 sur une urine à pH 1. On obtient ainsi un extrait brut contenant des substances lipidiques libres de l'urine, parmi lesquelles sont les corticoïdes à doser ; cet extrait doit être soumis à une purification au moins grossière.

2^e Temps : Fractionnement de l'extrait.

Tous les auteurs, en général, préconisent une ou plusieurs extractions par la soude plus ou moins diluée qui débarrasse l'extrait des substances acides et phénoliques, en particulier les œstrogènes, après quoi l'extrait est lavé à l'eau distillée. On obtient ainsi un extrait lipidique neutre total qui contient encore beaucoup d'autres substances que les corticoïdes à doser. Certains auteurs (HEARD et SOBEL) pratiquent sur l'extrait lipidique total, sans purifier davantage, la réaction de caractérisation finale. Dans d'autres cas, on a proposé un supplément de purification :

- TECHNIQUES REPOSANT SUR DES DIFFÉRENCES DE POLARITÉ ENTRE LES DIVERS STÉROÏDES.

Rappelons que MASON, MYERS et KENDALL avaient montré le caractère hydrosoluble des corticostéroïdes les plus oxygénés, à cinq atomes d'oxygène comme le comp. E ou le

comp. F. Cette propriété est très volontiers mise à profit pour la séparation de ces corticostéroïdes, surtout en recherche, en vue de leur isolement à l'état pur à partir d'un extrait cortico-surrénal, d'un extrait lipidique sanguin, d'un extrait lipidique urinaire, et donne lieu souvent à l'un des premiers temps de la purification de tels extraits avant la séparation de Girard et la chromatographie ; les corticostéroïdes les plus oxygénés, donc les plus riches en groupes polaires, mis en présence d'un système de solvants à deux phases, l'une polaire (aqueuse), l'autre apolaire (organique), tendent à se solubiliser dans la phase polaire aqueuse, alors que le restant du matériel lipidique de l'extrait, en général pauvre en groupements polaires, passe dans la phase organique. Les systèmes de solvants les plus employés sont le système benzène-eau, le système benzène-éther de pétrole-eau, le système hexane-méthanol aqueux 70 %, etc... Ce procédé est valable dans un dosage des corticoïdes urinaires appliqué à la pratique courante — du moins pour certaines méthodes (notons que SAMUELS et NELSON l'emploient) — séparation hexane-méthanol (pour le dosage des 17-hydroxy-corticostéroïdes sanguins).

TALBOT a préconisé la séparation benzène-eau pour le dosage des « 11-oxy-stéroïdes réducteurs » ; en fait cet auteur prêtait à ce geste une signification spéciale. Etudiant in vitro les coefficients de solubilité des différents stéroïdes corticosurrénaux connus actifs vis-à-vis du système benzène-eau, TALBOT constate les chiffres suivants :

<i>Solubilité dans l'eau en %</i>		
5 atomes 0	Comp. F	100
	Comp. E	100
4 atomes 0	Corticostérone	38
	11-dehydro-	25
3 atomes 0	D.O.C.	2

chiffres en accord avec ceux de VELEZ et DELTOUR étudiant le coefficient de partage de différents stéroïdes surrénaux entre eau et éther de pétrole :

	<i>Eau</i>	<i>Ether de pétrole</i>
	%	%
Comp. E	98	2
Comp. F	98	2
Comp. S	20	80
D.O.C.	5	95

Ainsi les composés à cinq atomes d'oxygène sont très solubles dans l'eau et y passent intégralement. La désoxycorti-

costérone à trois atomes d'oxygène, est très peu soluble dans l'eau et passe dans le solvant organique. Les stéroïdes à quatre atomes d'oxygène possèdent une situation intermédiaire et sont plutôt peu solubles dans l'eau.

TALBOT et d'autres auteurs ont pensé pouvoir ainsi séparer dans l'extrait lipidique neutre urinaire les corticoïdes les moins oxygénés, qu'on a considérés comme des métabolites de la fonction minéralorégulatrice (désoxycorticostérone) et métabolites dérivés, englobés sous le vocable de « 11-désoxy » et les corticoïdes les plus oxygénés, censés provenir de la sécrétion glycocorticoïde (groupe des « 11-oxy »). Ainsi ce groupement oxygéné en C11, non seulement déclaré capable de déterminer la vocation métabolique d'un corticostéroïde, s'est vu attribuer le pouvoir d'induire les caractères de plus ou moins grande hydrophilie du même stéroïde. De l'usage de cette séparation benzène-eau est née la fâcheuse notion du « dosage des 11-oxystéroïdes urinaires ».

Nous reconnaissons que les faits in vitro invoqués par TALBOT sont exacts et même applicables au comp. E et au comp. F qui existent effectivement dans l'urine, mais nous rappellerons que ni la corticostérone, ni la 11-déhydrocorticostérone, ni la désoxycorticostérone, ni le comp. S n'y ont été décelés. D'autre part, l'urine ne manque pas de corticoïdes dont on ne connaît que mal ou pas du tout la structure. Les données recueillies in vitro par TALBOT ne sont donc pas transposables de plano à l'extrait urinaire. D'autres raisons positives peuvent en être données. La sécrétion interne minéralo-corticoïde, représentée vraisemblablement par l'aldostérone (à 5 atomes O), peut logiquement conduire à la formation de métabolites urinaires aussi polaires que ceux du comp. F (également à 5 atomes O). De plus, l'hydrophilie d'un stéroïde doit être considérée en fonction de tous les atomes d'oxygène qu'il est susceptible de porter, et non du seul oxygène en 11 ; celui-ci d'ailleurs n'est probablement pas le plus actif de tous (empêchement stérique important avec le méthyl angulaire en 10) ; il faudrait faire intervenir pour une part l'hydroxyl en 17 (là encore empêchement stérique important) ; enfin, les caprices du métabolisme peuvent faire d'un stéroïde, primitivement polaire (type cortisone), un stéroïde liposoluble, ainsi rappelons que LIEBERMANN et coll. ont isolé de l'urine, après administration d'acétate de cortisone, la prégnane-3 α , 17 α -diol-11, 20-dione (composé ayant perdu l'oxygène en 21) dans la fraction benzénique de l'extrait : l'oxydrile en 21 est certainement le plus actif de tous les groupements oxygénés de la cortisone et sa perte conduit à un composé « benzène-soluble ». (Ce qui signifie par exemple que dans une technique de dosage des

17, 20-dihydroxy-20-méthyl-stéroïdes (corticoïdes acétaldéhydogéniques de Cox), la partition benzène-eau est contre-indiquée.

Si pour certaines techniques, la partition type benzène-eau peut constituer une étape normale de la purification de l'extrait urinaire, il n'existe par contre actuellement aucun moyen pour séparer le groupe des métabolites urinaires des hormones protéino-glucidiques du groupe des métabolites des hormones minéralorégulatrices.

— APPLICATION DE LA MÉTHODE DE GIRARD.

Le réactif T de GIRARD (hydrazide de l'acide triméthylaminoacétique) forme des hydrazones très hydrosolubles avec les stéroïdes cétoniques qui peuvent ainsi être séparés. Cette technique est extrêmement employée pour l'isolement à l'état pur et la caractérisation d'un corticostéroïde, étape préparant la chromatographie. TALBOT et SPRECHLER l'ont préconisée pour le dosage des 11-oxyréducteurs dans l'urine ; COSTE et DELBARRE l'ont également proposée pour pouvoir appliquer à l'extrait urinaire la réaction de PORTER et SILBER à la phénylhydrazine. Cependant, dans un travail quantitatif, sur un milieu aussi complexe que l'urine, la séparation de GIRARD risque d'être un piège et nous sommes personnellement peu enclins à l'utiliser.

— TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES.

Elles tendent à devenir de plus en plus utilisées, nous y ferons allusion à propos de méthodes de dosage plus récentes.

3^e Temps : Caractérisation et détermination quantitative des corticoïdes.

C'est par là que les diverses techniques diffèrent le plus.

DOSAGES UTILISANT DES RÉACTIONS D'OXYDO-RÉDUCTION.

Ces techniques reposent sur l'application des propriétés réductrices du groupement α -cétole en 17 :

— *Technique de TALBOT* : cet auteur extrait les corticoïdes de l'urine à pH 7 au chloroforme, fait une partition benzène-eau et une séparation de GIRARD. Il dose les corticoïdes cétoles par la réduction du réactif cuivrique de NELSON (copper reducing lipids ou C.R.L.). L'ordre de grandeur des résultats chez les sujets normaux donne une élimi-

nation journalière de 0,20 à 0,25 mg. de « 11-oxy-stéroïdes réducteurs » (en comp. B). ROMANOFF trouve une élimination journalière de 0,50 mg. en D.O.C.A.

Cette technique n'est plus guère employée ; elle est laborieuse et le réactif de NELSON est un mauvais solvant pour les stéroïdes dosés.

— *Bien plus utilisée est la technique de HEARD, SOBEL et VENNING* : ceux-ci après extraction de l'urine à pH 1 par l'éther-chloroforme, dosent le pouvoir réducteur de l'extrait lipidique neutre total au moyen du réactif phospho-molybdique de Folin-Wu (phospho-reducing lipids ou P.R.L.) ; la réduction du réactif développe une teinte bleue avec maximum d'absorption lu à 650 m μ . A l'aide de cette technique, HEARD et coll. trouvent une élimination urinaire journalière normale de 1,53 mg. (en désoxycorticostérone). ROMANOFF, étudiant un rythme diurnal de l'élimination des corticoïdes à l'aide de cette technique, trouve 2,11 mg. la nuit, 2,62 le matin, 2,51 le jour (différences bien faibles en vérité). Cette méthode a été largement utilisée et abondamment critiquée. Certes, comme toutes les méthodes suivant ce principe, elle ne dose qu'un pouvoir réducteur. Or, quel est le pouvoir réducteur d'un corticoïde ? HEARD et SOBEL ont fait une étude serrée de la question ; ils distinguent plusieurs groupes de stéroïdes, suivant leur pouvoir réducteur :

- Groupe A : stéroïdes à groupement α -cétoal aliphatique à pouvoir réducteur maximum (type D.O.C.).
- Groupe B : stéroïdes à groupement cétoal avec — OH en 17 à pouvoir réducteur diminué (type cortisone).
- Groupe C : stéroïdes à groupement cétoal des deux groupes précédents estérifiés par l'acide acétique en 21, diminuant nettement la vitesse initiale de réduction.
- Groupe D : la présence d'un oxygène en C11 ou C12 diminue la capacité réductrice de l' α -cétoal en 17.
- Groupe E : un α -cétoal tertiaire est essentiellement non réducteur.
- Groupe F : les α -cétoal secondaires cycliques dans le noyau A sous forme d'acétates et dans le noyau C sous forme libre, présentent un pouvoir réducteur du même ordre que celui des cétoal aliphatiques primaires. Les cétoal du noyau B sous forme acétates ne peuvent réduire ; l'inertie de l'acétate est

attribuée à une incapacité du milieu acide à effectuer un déplacement d'équilibre des groupes acétoxy.

- Groupe G : stéroïdes à groupement $\alpha\beta$ dicétone, modérément réducteurs.
- Groupe H : stéroïdes à groupement 3-cétone $\alpha\beta$ non saturés : pouvoir réducteur du même ordre que celui des composés à groupements α -céto aliphatiques ou cycliques.
- Groupe I : stéroïdes dépourvus de pouvoir réducteur :
 - $\alpha\beta\Delta$ -7-cétostéroïdes ;
 - $\alpha\beta\Delta$ -12-cétostéroïdes ;
 - Δ 4 et Δ 5-ol-3-stéroïdes.

Les propriétés réductrices des corticostéroïdes, α -céto-liqués en particulier, ne sont pas spécifiques. Elles ont cependant l'avantage d'être correctement mesurables. Rappelons l'étude statistique de ROMANOFF, PLAGER et PINCUS, qui donne la préférence à la méthode de HEARD, SOBEL et VENNING après comparaison avec les méthodes d'oxydation périodique. Les autres réactions proposées (oxydants, phénylhydrazine, et dérivés) n'échappent pas aux critiques formulables à l'endroit de la méthode de HEARD et SOBEL, et n'apportent pas davantage des garanties de spécificité. De plus nous avons noté que DE COURCY et coll., étudiant par chromatographie sur papier le contenu en substances réductrices (T.P.T.Z.) de l'extrait lipidique urinaire, constatent que « très peu de matériel réducteur autre que les substances caractérisées en tant que stéroïdes ou très probablement stéroïdes a été trouvé sur les chromatogrammes d'urines hydrolysées par voie enzymatique ».

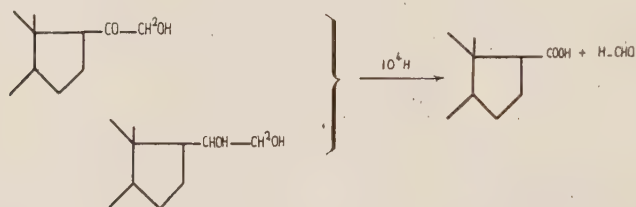
Au laboratoire de la Clinique Obstétricale, la méthode que nous avons utilisée applique la réduction du réactif phosphomolybdique, telle que l'ont proposée HEARD et SOBEL.

— CHEN et TEWELL proposent une méthode de caractérisation fondée sur la réduction du bleu de tétrazolium (chlorure de dianisole-diphényl-tétrazolium). Les auteurs présentent cette réaction comme plus spécifique que la réduction de l'ion phosphomolybdique : le B.T.Z. serait réduit essentiellement par le groupe céto 17 et non par le groupement cétone $3\alpha\beta$ non saturé du noyau A, contrairement au réactif de FOLIN-WU qui dose aussi bien les deux.

— DOSAGES UTILISANT L'ACIDE PÉRIODIQUE.

L'acide périodique réagit différemment avec un corticostéroïde suivant la structure de sa chaîne latérale en 17.

Les techniques de DAUGHADAY et de CORCORAN et PAGE dosent les corticoïdes dits formaldéhydrogéniques (formaldehydic-lipids ou F.L.) : l'acide périodique scinde en effet les chaînes latérales en 17, cétole ou glycol avec libération d'un atome de carbone sous forme aldéhyde formique et formation de l'acide correspondant. A chaque molécule de formaldéhyde libérée correspond une molécule de stéroïde. Ainsi le dosage comprend deux temps : oxydation des corti-



coïdes dans l'extrait par IO_4H dans des conditions standard, arrêtée au bout d'un temps déterminé par le chlorure stanneux, puis appréciation quantitative colorimétrique du formol par l'acide chromotrope (Mc FAYDEN). Ici, les différentes modalités expérimentales varient suivant les auteurs : CORCORAN et PAGE dosent le formol dans le milieu d'oxydation même ; DAUGHADAY juge préférable de recueillir le formaldéhyde libéré par distillation avant d'appliquer la réaction à l'acide chromotrope ; des artifices ont été proposés pour éviter cette phase de distillation : technique de diffusion par la méthode de CONWAY, utilisée par HOLLANDER et WILSON ; méthode de RABINOVITCH dosant directement le formol dans le milieu, préalablement traité par le sulfite d'argent, l'iodure d'argent formé étant éliminé par filtration.

Les ordres de grandeur d'élimination donnent en mg. par jour 0,5 pour LOEWENSTEIN en comp. A, 1,15 à CORCORAN et PAGE en D.O.C.A., 1,4 pour DAUGHADAY (chiffre voisin de celui de HEARD et coll.).

On a attribué à ces techniques une certaine spécificité ; théoriquement elles ne semblent doser que les composés comportant une chaîne cétole ou glycol. Cependant il faut se méfier des conditions opératoires mêmes, qui apparaissent délicates. L'acide périodique, oxydant puissant, peut dépasser le stade escompté et la réaction devenir de signification quantitative précaire ; certains types de structures sont spécialement labiles en présence d' IO_4H et se comportent différemment des cétole et glycol : il est curieux de constater qu'on se soit adressé au même acide périodique pour doser électivement les 17-hydroxycorticostéroïdes urinaires, suivant un principe différent ; ceux-ci en présence

d'10₄H se transforment par scission totale de la chaîne latérale en 17-cétostéroïdes dosables par la réaction de ZIMMERMANN en équivalents d'androsterone. Cette méthode de TALBOT-ERTINGON prétend ainsi déterminer les composés à chaîne latérale — C(OH) — CO — CH₂OH ; — C(OH) — CHOH — CH₂OH ; — C(OH) — CHOH — CH₃. Cette technique est en fait pleine d'embûches : elle a été cependant rajeunie par de récents travaux.

-- DOSAGES UTILISANT LA PHÉNYLHYDRAZINE ET DÉRIVÉS.

PORTER et SILBER ont proposé une réaction de caractérisation spécifique des 17-21-dihydroxy-20-cétostéroïdes : couleur jaune avec la phénylhydrazine en solution sulfurique diluée (maximum à 410 mμ). Les auteurs ne sont pas parvenus à mettre à profit cette réaction pour un dosage de ces composés dans l'urine, en raison notamment de l'existence d'artefacts, stéroïdiques ou non, réagissant avec la phénylhydrazine. COSTE et DELBARRE ont prétendu résoudre la question en faisant une purification plus poussée de l'extrait, soit par séparation au réactif T de GIRARD, soit par absorption sur kaolin (excrétion journalière des 17-hydroxycorticoïdes libres de l'ordre de 160 gammas). En fait, cette méthode s'est révélée très critiquable ; outre les inconvénients attenant à la manipulation du réactif T, il faut souligner le manque de spécificité de la réaction à la phénylhydrazine : le fractionnement proposé par COSTE et DELBARRE n'est pas suffisamment sélectif pour permettre des résultats reproductibles. Récemment, on s'est mis à appliquer largement cette réaction pour l'appréciation des 17-hydroxycorticoïdes sanguins et urinaires (NELSON), mais on a mis parallèlement en pratique des techniques de fractionnement adéquates.

On a proposé également une réaction colorée de caractérisation des corticoïdes utilisant la 2,4-dinitro-phénylhydrazine en milieu alcoolique en présence d'un acide fort : couleur rouge-orangé avec maximum à 475 mμ apparaissant par alcalinisation. Cette réaction, très utilisée en chromatographie sur papier pour la détection des composés sur les chromatogrammes, a été proposée pour le dosage des corticoïdes en solution (GORNALL et MAC DONALD). Les composés réagissant le plus énergiquement avec la 2,4-dinitro-phénylhydrazine sont ceux qui possèdent le groupement one-3-Δ₄ et la chaîne 17, 21-diol-20-one (type comp. F). Cette technique a donné des résultats valables dans l'ensemble entre les mains de certains chercheurs (JAYLE). Au laboratoire de la Clinique Obstétricale, elle ne nous a pas donné entière satisfaction.

TECHNIQUES PLUS RÉCENTES D'EXTRACTION ET DE DOSAGE DES CORTICOÏDES URINAIRES

Depuis plusieurs années, l'attention a été attirée sur le caractère très incomplet des extractions faites simplement à partir d'une urine non traitée ou simplement acidifiée. DEVIS dit bien que l'une des difficultés dominantes dans le dosage des corticoïdes urinaires est le « caractère quantitatif de l'extraction ».

Nous avons déjà fait allusion à l'existence de stéroïdes conjugués dans le sang et dans l'urine : rappelons une fois de plus — cette notion a une importance capitale — que les métabolites stéroïdiques urinaires, pris dans leur généralité, se trouvent essentiellement sous deux formes :

— Une forme libre, facilement extraite par les solvants organiques au pH même de l'urine ou après acidification et qui représente une faible minorité du point de vue quantitatif (certains conjugués non glycuroniques, en faible quantité, seraient en fait solubles dans le chloroforme : ils s'éliminent d'ailleurs lors des lavages alcalins de l'extrait).

— Une forme conjuguée, très importante quantitativement ; ici, la molécule stéroïde est copulée à une substance très riche en groupements polaires donc fortement hydrosoluble (acide glycuronique et acide sulfurique), en un complexe stable en présence des solvants organiques ; le caractère lipophile propre de la molécule stéroïde est de ce fait masqué ; les solvants organiques ne peuvent extraire les stéroïdes conjugués.

Ainsi les premières extractions proposées (TALBOT, HEARD et coll.) ne permettent de doser théoriquement que des métabolites compris dans la fraction libre, qui est quantitativement la moins importante. Actuellement, on cherche à doser les « corticoïdes totaux », libres et conjugués. Reconnaissons d'emblée le caractère relatif et conventionnel du terme de corticoïdes « totaux » : il est probable qu'aucun procédé n'est parfait, une partie plus ou moins grande des corticoïdes ne peut être extraite. Cependant cette notion pose le problème de l'hydrolyse des complexes glycuroniques (liaison osidique) ou sulfuriques (liaison ester) pour restituer à l'état libre les stéroïdes et rendre leur extraction possible par les solvants organiques.

Nous pensons que cette question est essentielle même pour la simple application à la biologie clinique. On ne

conçoit pas un dosage des 17-C.S. urinaires sans hydrolyse : il n'y a pas de raison pour qu'on s'en tienne, en ce qui concerne les corticoïdes, au simple dosage d'une « petite fraction libre ».

Certes, on peut objecter que « la question de l'extraction complète des corticoïdes est loin d'être résolue » (DEVIS) : cependant, certaines techniques d'hydrolyse (en particulier hydrolyse enzymatique) ont fait leurs preuves expérimentales, qui permettent de tirer des conclusions positives intéressantes sur le plan pratique. Sans vouloir prétendre que ces techniques permettent une extraction totale des corticoïdes, nous pensons qu'elles présentent des avantages suffisants pour être substituées aux premières méthodes proposées. En effet, elles permettent de doser un nombre bien plus important de métabolites ; donc méthodes plus sensibles, chiffres plus élevés, plus constants, donnant une idée plus exacte de l'élimination quantitative des métabolites urinaires de provenance corticosurrénale, plus facilement et plus sûrement interprétables. Combien de fausses augmentations des corticoïdes (réducteurs formaldéhydogéniques, extraits à froid suivant le premier procédé) sont-elles dues à une hydrolyse spontanée — due principalement aux hydrolases bactériennes — des complexes glycuroniques dans une urine qui souffre d'un transfert trop lent entre son lieu de récolte et le laboratoire, comme cela se produit fréquemment en pratique ? Les conditions idéales de récolte des urines et de rapidité de mise en route des dosages se révèlent extrêmement difficiles à réaliser en routine clinique ; et il est pour nous absolument certain que, du fait de l'hydrolyse spontanée des urines, les chiffres normaux obtenus en pratique hospitalière, même en clientèle, sont très nettement supérieurs à ceux initialement indiqués par HEARD et SOBEL par exemple ; l'usage d'antiseptiques semble moins sûr ici qu'en d'autres circonstances, et c'est pourquoi la logique imposera inéluctablement l'élimination des anciennes techniques et leur remplacement par des méthodes avec hydrolyse préalable.

Quels sont les procédés d'hydrolyse que l'on a proposés ? On peut les envisager sous deux rubriques :

- hydrolyse acide ;
- hydrolyse enzymatique.

HYDROLYSE ACIDE

Rappelons que la simple acidification à pH 1 à froid était devenue de pratique courante avec et après HEARD, SOBEL et coll. Les études de SPRECHER avaient montré que plus le pH de l'urine diminue, meilleur est le rendement de l'extraction, surtout si cette extraction intervient après un certain délai, jusqu'à 24 heures après acidification. En fait, des travaux récents ont prouvé le peu d'efficacité du procédé : la simple extraction à pH 1 à froid ne fait guère mieux que l'extraction au pH même de l'urine.

Pour obtenir une hydrolyse des complexes osidiques ou esters il faut employer des procédés plus énergiques : une forte acidification (pH 1) et une température relativement élevée, pendant un temps suffisant.

RIVOIRE et PAZKOWSKI ont tenté d'appliquer à une technique de routine l'hydrolyse acide pour le dosage des corticoïdes urinaires. Sur une prise d'essai d'urine de 50 ml., RIVOIRE ajoute 7,5 ml. d'acide chlorhydrique pur et chauffe 30 minutes au bain-marie bouillant. L'urine ainsi traitée est extraite au chloroforme et les corticoïdes sont déterminés suivant la technique de DAUGHADAY et coll. (oxydation périodique et caractérisation du formaldéhyde libéré par l'acide chromotropique). RIVOIRE trouve ainsi une élimination journalière normale de 2,5 mg. de corticoïdes formaldéhydogéniques en D.O.C.A., contre 1,4 à la méthode de DAUGHADAY et 1,15 à la méthode de CORCORAN et PAGE (rendement environ deux fois supérieur).

Ce travail de RIVOIRE s'est heurté à une véritable conspiration du silence, car il allait à l'encontre du dogme de l'extrême thermolabilité des corticostéroïdes et corticoïdes, aggravée encore par l'hyperacidité du milieu. Il faut reconnaître que la glucuronidase a permis des récupérations bien supérieures de corticoïdes formaldéhydogéniques. L'emploi de l'hydrolyse diastasique ne double pas le rendement de l'extraction mais le multiplie par 10 ou par 15 : la méthode de RIVOIRE était donc bien imparfaite. Cependant cette hydrolyse chlorhydrique, à qui on refusait toutes chances pour l'extraction des corticoïdes conjugués, est largement employée pour l'extraction des 17-cétostéroïdes urinaires : bien que l'on ne puisse nier que les artefacts chlorés ne se répandent abondamment, on considère le procédé comme valable. Actuellement, il apparaît que l'on a notablement exagéré cette sensibilité à la chaleur et aux acides des corticoïdes, jusqu'à vouloir faire toutes les distillations à la température

ordinaire. Il est curieux que JAYLE, qui refuse toute valeur à l'hydrolyse chlorhydrique à chaud, consente à porter à l'ébullition pendant 10 minutes les urines qu'ils se propose de soumettre à l'hydrolyse enzymatique bactérienne en vue d'un dosage des corticoïdes, si ce traitement doit détruire la majeure partie de ces substances. DEVIS a fait une étude systématique de la question et a constaté des faits « surprenants » qu'il résume ainsi dans ses conclusions :

« — dans les cas considérés, un chauffage prolongé à pH 1 et même une ébullition des urines en milieu chlorhydrique concentré ont conduit à un rendement en corticoïdes identique à celui obtenu après hydrolyse fermentaire au suc gastrique d'escargot ;

« — si l'on bout dans les mêmes conditions une solution aqueuse de désoxycorticostérone, de cortisone (ou de comp. S de REICHSTEIN), il n'y a aucune perte en pouvoir réducteur. Ce résultat paraît confirmer le précédent. Il ajoute au crédit de l'hydrolyse chlorhydrique à chaud, mais au seul point de vue quantitatif ».

Pour les simples dosages, peu importerait « l'altération des molécules, si le pouvoir réducteur ou autre des molécules altérées équivalait à celui des molécules intactes ».

Cependant nous devons noter que DEVIS n'est pas parlant d'une hydrolyse chlorhydrique pour le dosage des corticoïdes. Si ce procédé est valable, pour les 17-C.S., pour les corticoïdes « il y a peu d'espoir en ce sens. Déjà dans certains de nos essais, il nous a semblé qu'après ébullition en milieu chlorhydrique, la récupération en cortisone est légèrement supérieure à la quantité au départ (en équivalent réducteur) ».

Au laboratoire de la Clinique Obstétricale, à un moment où il n'était pas encore possible d'appliquer l'hydrolyse enzymatique et où seules les extractions à froid avaient cours, nous avons déjà tenté, dès 1952, avec M. BETHOUX, de mettre en pratique une méthode d'hydrolyse chlorhydrique à chaud, différente de celle de RIVOIRE, qui a donné des résultats valables, parfois comparables à ceux de l'hydrolyse enzymatique (page 101).

HYDROLYSE ENZYMATIQUE

Nous avons déjà fait allusion à la large utilisation de ce procédé par la recherche. Il est incontestable que c'est là actuellement un procédé de choix à la portée du laboratoire clinique courant pour l'hydrolyse et l'extraction des corticoïdes « totaux ».

L'hydrolyse spontanée des complexes hydrosolubles de corticoïdes observée dans les urines conservées, même à la glacière, relève vraisemblablement d'une action fermentaire provenant des germes contaminateurs de l'urine (surtout germes Gram négatif et entérocoques). DEVIS constate que dans des urines très contaminées (contrôle bactériologique) cette hydrolyse passive est très poussée : après une conservation de 48 heures à 37° et extraction directe à pH 1, le dosage des corticoïdes réducteurs donne des résultats du même ordre que ceux obtenus avec hydrolyse enzymatique provoquée. Cette hydrolyse passive constitue une cause d'erreur très importante pour les techniques dosant les métabolites « libres », comme pour celles qui extraient les stéroïdes conjugués butylo ou amylo-solubles : l'emploi d'antiseptiques est le palliatif habituel.

Cette cause d'erreur est certainement minimisée, sinon supprimée, si l'on met en œuvre systématiquement l'hydrolyse enzymatique : de plus, celle-ci présente a priori moins de dangers que l'emploi d'un acide fort : DEVIS semble sceptique devant l'hydrolyse enzymatique à laquelle il trouve un caractère aléatoire : nous ne pensons pas qu'un ferment puisse être aussi destructeur qu'un acide fort : c'est un fait général en enzymologie, une hydrolase n'est pas faite pour dégrader les produits de l'hydrolyse même, surtout quand ceux-ci (et c'est vraisemblablement le cas pour un glycuronide de stéroïde) sont des composés à structure stable, dont la dégradation exigerait des processus spéciaux et de nouvelles conditions d'énergie. On ne peut en dire autant en ce qui concerne l'hydrolyse par un acide fort ou une base forte : exemple, quand on étudie les acides aminés constitutifs d'une protéine, on a recours de préférence à l'hydrolyse par enzymes protéolytiques : les acides aminés libérés se trouvent ainsi sous leur forme naturelle et en particulier ne sont pas racémisés, comme ils risqueraient de l'être par une base ou un acide forts. Que la spécificité absolue des glycuronidases ne soit pas établie ne nous paraît pas être une difficulté ; il y a en fait une spécificité de groupe, l'enzyme n'agissant que sur un complexe osidique de l'acide glycuronique. L'activité et la pureté des glycuronidases sont peut-être difficiles à contrôler ; cependant en choisissant convenablement la prise d'essai urinaire, la quantité de préparation diastasique, un temps suffisant d'hydrolyse, l'on arrive à avoir une hydrolyse maxima. Reste la question de substances stimulatrices ou inhibitrices des enzymes d'hydrolyse dans l'urine : cette importante question mériterait de faire l'objet de recherches systématiques et n'a pas pu encore recevoir de réponse.

Les préparations enzymatiques utilisées concernent surtout la glycuronidase. Sans vouloir entrer dans les détails, on peut dire que trois types de préparations sont le plus usuellement employés :

— glycuronidase extraite de tissus tels que rate et foie de veau ou de bœuf, obtenue, par certains, sous forme d'une protéine électrophorétiquement pure ;

— glycuronidase d'origine bactérienne (bactéries Gram négatif : coliformes et paracoli).

L'activité hydrolysante de ces préparations est mesurée par la méthode de TALALAY, FISHMANN, HUGGINS : en tampon convenable, on fait agir à 37° 5 la préparation enzymatique sur le phénolphtaléine-glycuronide (Phtg). Au bout du temps fixé, on arrête l'action enzymatique par addition d'un tampon glycine. La densité optique de la coloration rose violet de la phtaléine libérée par l'enzyme, déterminée à 550 m μ , mesure l'activité. Celle-ci est exprimée en unités Fishmann : l'unité d'activité est ainsi définie : un gamma de phénolphtaléine libérée en une heure par gramme de tissu frais, par ml. de préparation ou par mg. d'azote à partir de Phtg 0,01 M en milieu tampon acétate 0,1 M de pH 4,5 à 37° 5.

— les travaux de HENRY, JARRIGE et THUÉVENET ont fait connaître récemment une source très active d'enzyme : le suc digestif d'*Helix Pomatia*, qui a l'avantage d'exercer une double activité hydrolysante : sur les glycuco-conjugués et sur les sulfo-conjugués (phénolsulfatase).

Après avoir été un certain temps l'apanage des seules techniques de recherche, l'hydrolyse enzymatique tend à être vulgarisée de plus en plus aux techniques de routine.

TALBOT, RYAN et WOLFE ont rapporté l'hydrolyse enzymatique du glycuronidate sodique du prégna diol par un extrait de foie de rat contenant de la glycuronidase. BUEHLER, KATZMAN et DOISY ont décrit une puissante préparation de glycuronidase bactérienne comme agent hydrolysant des complexes urinaires d'œstrogènes et de 17-cétostéroïdes.

Dans le domaine des corticoïdes, rappelons les travaux de VENNING, qui constate que l'hydrolyse enzymatique augmente sensiblement le rendement en corticoïdes réducteurs ou formaldéhydrogéniques, sans élever de façon appréciable l'activité glycogénique de l'extrait lipidique urinaire. COX obtient à l'aide d'une glycuronidase splénique de veau des quantités 10 à 30 fois plus importantes que celles obtenues à pH 1, de corticoïdes formaldéhydrogéniques. COX et MARRIAN constatent des faits du même ordre avec une glycuronidase splénique de bœuf (rendement 10 fois supérieur à l'hydrolyse acide prolongée 24 heures à pH 1 à 37°).

Nous insisterons un peu plus sur le travail de KINSELLA et GLICK, qui effectuent l'hydrolyse des stéroïdes conjugués de l'urine à l'aide d'une glycuronidase bactérienne. Ils inoculent un échantillon urinaire de 10 ml. avec 2 ml. d'une culture d'*Escherischia Coli* et laissent incuber de 12 à 18 heures à 37° et à pH 6,2. Puis l'extraction et la caractérisation des stéroïdes réducteurs (P.R.L.) sont faites suivant la méthode de HEARD, SOBEL et VENNING. Or, les auteurs constatent eux aussi des résultats de 10 à 20 fois plus élevés que ceux de HEARD et coll.. Chez l'individu normal, le taux d'excrétion des P.R.L. fait ressortir une moyenne de 15,8 mg. par 24 heures, sur un total de 16 sujets, les chiffres extrêmes étant de 10,5 mg. par 24 heures et de 25 mg. par 24 heures. Trois dosages effectués pendant la dernière semaine de la grossesse donnent une élimination de 41,1 mg. par 24 heures ; 26,0 mg. par 24 heures ; 23,8 mg. par 24 heures. Les auteurs pensent que ces rendements élevés de corticoïdes urinaires chez le sujet normal, comme chez la femme enceinte, sont corrélatifs de l'activité sécrétoire surrénale, vu les données recueillies après tests à l'A.C.T.H. : après administration intramusculaire de 120 U.I. d'A.C.T.H., répartie sur 12 heures, l'élimination par 24 h. donne (en mg.) :

<i>Sujet</i>	<i>Jour avant A.C.T.H.</i>	<i>Jour du test A.C.T.H.</i>	<i>Jour après A.C.T.H.</i>
1	22,3	48,9	18,4
2	20,4	40,8	32,8
3	25,3	34,2	23,4
4	12,7	35,8	12,7

Ainsi, l'A.C.T.H. entraîne une activation surrénale testable par l'augmentation des P.R.L. urinaires. Ces auteurs admettent que l'appréciation des corticoïdes réducteurs par la méthode de HEARD et SOBEL, complétée par une hydrolyse enzymatique au début, constitue une exploration fonctionnelle valable de la corticosurrénale.

HENRY et coll. publient des résultats voisins en adaptant à la méthode de HEARD et coll. l'hydrolyse enzymatique par le suc digestif d'escargot : les résultats font apparaître une augmentation de 8 à 15 fois par rapport au Heard-Sobel classique. A ce propos, THIEVENET insiste sur l'importance de la sulfatase dans l'hydrolyse complète des corticoïdes urinaires. Les dosages effectués par le suc pur et par le suc en présence de 1 % de fluorure de sodium, inhibiteur de la sulfatase, ne montrent pratiquement pas de différence dans les cas normaux. Par contre, après traitement à l'A.C.T.H. et dans les hyper-fonctionnements surrénaliens, une importante fraction

des corticoïdes réducteurs (qui pourrait atteindre 50 %) n'est libérée que si la sulfatase est présente. Ainsi, dans certains cas, les glycuronidases purifiées d'origine splénique ou bactérienne pourraient donner des résultats incomplets, les *sulfo-conjugués échappant à leur action*.

Techniques récentes utilisant la phénylhydrazine.

GLENN et NELSON ont présenté très récemment une méthode extrêmement intéressante du dosage des 17-hydroxycorticoïdes urinaires. Ces auteurs commencent par une hydrolyse enzymatique, font un fractionnement chromatographique leur permettant de recueillir, à partir de la même prise d'essai urinaire, les 17-cétostéroïdes dosés par la réaction de ZIMMERMANN et les 17-hydroxycorticoïdes dosés par la phénylhydrazine. Une prise d'essai de 30 ml. d'urine est tamponnée à pH 4,5 (tampon acétate) et additionnée d'une solution standard de glycuronidase à 5.000 U. Fishman par ml. L'incubation se fait soit 28 heures à 37°5, soit 15 heures à 47°5, ce qui donne des valeurs légèrement plus élevées. Après incubation, les urines sont extraites au chloroforme ; l'extrait lipidique est chromatographié sur colonne de florisil (voir dosage des 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins, technique de SAMUELS et NELSON). Une première élution est faite avec 25 ml. de chloroforme, puis avec 25 ml. de chloroforme à 4 % d'éthanol ; ces éluats recueillis et réunis contiennent les 17-C.S. dosés par réaction de ZIMMERMANN. Une dernière élution avec 25 % d'éthanol recueille les 17-hydroxycorticoïdes. Ceux-ci sont dosés par la réaction de PORTER et SILBER (avec témoin sulfurique) lue à 370, 410 et 450 m μ au BECKMANN. Pour calculer les stéroïdes présents, le témoin sulfurique est retranché des résultats donnés par la phénylhydrazine. La somme des lectures après correction à 370 et 450 m μ est soustraite du produit de la lecture après correction à 410 m μ par 2, et la quantité des 17-hydroxycorticoïdes présents est calculée à l'aide d'une courbe standard obtenue avec du comp. F cristallisé dans les concentrations comprises entre 25 et 100 gammas.

La moyenne d'élimination journalière normale des 17-hydroxycorticoïdes urinaires (13 dosages effectués chez la même personne) donne 4,2 mg. par 24 heures, chiffres extrêmes 2,1 et 5,8. Sept dosages effectués chez des individus différents donnent par ailleurs une moyenne de 4,3 mg. par 24 heures, extrêmes 3,2 et 5,9. Il est intéressant de comparer ces chiffres à ceux qui sont rapportés par KINSELLA et coll. en ce qui concerne le dosage de la tétrahydrocortisone isolée par chromatographie sur papier et dosée par la réaction de PORTER et SILBER : rappelons que ces auteurs trou-

vent une moyenne d'élimination journalière de tétrahydro-E de 4,5 mg. (chiffres extrêmes 2,0 et 7,4). DE COURCY, GRAY et coll., utilisant la chromatographie sur papier et faisant une évaluation semi-quantitative des composés d'après la surface et l'intensité des taches, rapportent que la tétrahydro-cortisone est éliminée en quantité variant entre 200 et 4.000 gammas par jour ; dans le même travail, on note que les stéroïdes réducteurs E + F + R3 — R7 (voir p. 55) donnent un total de 2.908 gammas par 24 heures, chiffre moyen pour 10 hommes sains ; or, la majorité de ces composés, sinon la totalité, réagit avec la phénylhydrazine : cortisone, cortisol, tétrahydro-F (R3), tétrahydro-E (R4), dihydro-E (R5). Ainsi, la réaction de PORTER et SILBER, appliquée à un extrait urinaire convenablement fractionné, a l'avantage de doser essentiellement une majorité quantitative de composés connus dont la tétrahydro-E constitue l'élément principal. La technique de GLENN et NELSON, compensant le manque de spécificité de la réaction de PORTER et SILBER par un isolement suffisamment sélectif des substances à doser, paraît être une des moins hasardeuses que l'on ait jusqu'ici proposée. D'autre part, elle s'adresse aux métabolites semblant provenir du comp. F lui-même « chief-compound » de la sécrétion corticosurrénale.

Appliquée à la recherche clinique, cette technique de GLENN et NELSON a donné des résultats intéressants : notion d'un rythme diurnal d'élimination des 17-hydroxycorticoïdes urinaires totaux (élimination nocturne de l'ordre du 1/3 au 1/5 de l'élimination diurne), action de l'A.C.T.H. (moyenne d'élimination rapportée à 24 heures s'élevant à plus de 20 mg. après 25 U.I. d'A.C.T.H. administrées en 6 heures), chiffres très abaissés tendant vers zéro en cas d'insuffisance surrénale, chiffres très augmentés en cas de syndrome de CUSHING (3 dosages donnent comme élimination journalière 13,6 mg./24 h. ; 28,4 mg./24 h. ; 33,7 mg./24 h.).

Il est intéressant de comparer la technique de GLENN et NELSON à celle qu'ont préconisée REDDY, JENKINS et THORN. Ceux-ci dosent également les 17-hydroxycorticoïdes urinaires par la réaction de PORTER et SILBER, mais partent d'un principe différent pour leur extraction. Au lieu de faire une hydrolyse préalable des complexes glycuroniques pour extraire ensuite des stéroïdes libres, ils extraient d'emblée les conjugués eux-mêmes, butylo-solubles, et reportent à la fin l'hydrolyse qu'ils combinent avec la réaction colorimétrique, effectuée dans un solvant acide fort. C'est un principe identique que suit la technique mise au point par M. BETHOUX pour le « dosage du prégnañdiol urinaire », extraction des métabolites à doser sous forme conjuguée, par l'alcool iso-amylque et caractérisation finale par l'acide

sulfurique (réaction de TALBOT) qui assure simultanément l'hydrolyse des complexes.

La méthode de REDDY, JENKINS et THORN présente des avantages de simplicité et de rapidité la rendant très apte aux applications cliniques courantes. En voici les modalités : prise d'essai de 5 à 20 ml. d'urine, dépendant des valeurs attendues des 17-hydroxycorticoïdes, ajustée à pH 1 (papier indicateur) par l'addition de quelques gouttes d'acide sulfurique à 50 %. Deux extractions successives sont pratiquées avec un demi-volume de n-butanol, en agitant au minimum 3 minutes chaque fois. Les émulsions sont réduites par centrifugation. L'extrait butylique est lavé une fois avec 0,2 volume de soude N/10, puis une fois avec 0,2 volume d'acide sulfurique N/100. Chaque lavage se fait par agitation d'une minute seulement. La colorimétrie peut être mise en pratique immédiatement après extraction.

La colorimétrie exige la préparation de deux séries de trois tubes à réaction :

— *Tubes A* : 4 ml. de réactif (65 mg. de chlorhydrate de phénylhydrazine dissous dans 100 ml. d'acide sulfurique dilué : 620 ml. SO_4H_2 + eau q.s. pour 1 litre) sont additionnés à :

1. 1 ml. extrait butylique (essai A).
2. 1 ml. butanol (témoin A).
3. 1 ml. solution de cortisone (étalon A).

— *Tubes B* : 4 ml. d'acide sulfurique dilué (620 ml. SO_4H_2 dans eau q.s. pour 1 litre) sont additionnés à :

1. 1 ml. extrait butylique (essai B).
2. 1 ml. butanol (témoin B).
3. 1 ml. solution de cortisone (étalon B).

Les tubes agités vigoureusement sont incubés à 60° (température constante) pendant 20 minutes, puis sont refroidis pendant 5 minutes ; les densités optiques sont lues à 410 $\text{m}\mu$.

Calculs : essai A — essai B = (a).

témoin A — témoin B = (b).

(a) — (b) = densité optique corrigée de l'essai à déterminer (essai D.O.C.).

La densité optique corrigée (D.O.C.) de l'étalon est dérivée de la même manière.

mg./24 h. de 17-OH-corticoïdes =

$\text{gammas/ml. étalon} \times \text{essai D.O.C.} \times \text{volume des urines de 24 h. étalon D.O.C.}$

Cette technique qui permet des taux de récupération de 88 à 110 % de cortisone ajoutée à l'urine humaine, semble avoir donné des résultats valables, au point de vue clinique, du moins entre les mains de ses auteurs.

Les moyennes d'élimination normales journalières des 17-hydroxycorticoïdes rapportées par REDDY et coll. donnent pour 15 hommes, le chiffre de 5,8 mg. par 24 h. (chiffres extrêmes 2,9 et 12,0), pour 15 femmes : 3,8 mg. (chiffres extrêmes 1,1 et 8,6). Huit cas de maladie d'Addison, non traités par la cortisone, donnent une moyenne d'élimination de 0,60 mg. par 24 h. (extrêmes 0 et 2,0) ; cinq addisonniens, traités par 25 mg. par jour d'acétate de cortisone, éliminent en moyenne 3,4 mg. par 24 h. (extrêmes 3,1 et 4,1). Dans un cas de syndrome de Cushing, l'élimination par 24 heures est de 14 mg., dans un autre cas elle est de 81 mg. L'administration orale d'acétate de cortisone (500 mg. par jour) à des sujets normaux rhumatisants, entraîne une augmentation très importante de l'excrétion des 17-hydroxycorticoïdes de l'ordre de 100 mg. par 24 h. L'A.C.T.H. (perfusion intraveineuse de 25 U.I. par jour répartie sur 8 heures pendant trois jours) entraîne aussi une augmentation importante de l'élimination des 17-hydroxycorticoïdes, de l'ordre de 40 à 50 mg. par 24 heures.

Ces données numériques font apparaître avec celles recueillies des travaux de KINSELLA et de GLENN et NELSON des similitudes et des différences. Ainsi l'ordre de grandeur des chiffres normaux d'élimination journalière selon REDDY et coll. (5,8 et 3,8 mg. : moyenne 4,8) n'est pas sensiblement différent de ceux de KINSELLA (4,5) et de GLENN et coll. (4,3 et 4,2) ; il est vraisemblable que REDDY dose principalement la tétrahydro-cortisone, comme les autres auteurs, appliquant la réaction de PORTER et SILBER. Cependant, les chiffres sont souvent plus élevés, les écarts plus grands surtout en cas d'hyperfonctionnement surrénal ou en cas d'administration de comp. E-Ac exogène ; ces résultats élevés proviennent peut-être de l'extraction plus complète des composés sous forme de glycuronides butylo-solubles que l'extraction de stéroïdes libres intervenant après hydrolyse enzymatique. Celle-ci, de par son principe, est incomplète. JAYLE et coll. par exemple constatent qu'il reste toujours une quantité résiduelle de l'ordre de 5 à 10 % de glycuro-conjugués qui résistent à l'hydrolyse quelle que soit la quantité d'enzyme ajoutée. Ils exprimeraient « l'état d'équilibre de la réaction d'hydrolyse des conjugués par la glycuronidase ».

D'autre part, les corticoïdes urinaires peuvent se trouver combinés avec d'autres substances que l'acide glycuronique et particulier avec l'acide sulfurique, surtout semble-t-il, d'après THÉVENET, en cas d'hyperfonctionnement surrénal

pathologique ou induit par administration d'A.C.T.H. Chez un sujet ayant reçu 300 mg. de comp. E-Ac (cas équivalent à un hyperfonctionnement surrénal), REDDY et coll. constatent une élimination de 63 mg. par 24 h. des 17-hydroxycorticoïdes mesurés après extraction butylique. En utilisant la glycuronidase, suivant les données de COHEN, ils ne retrouvent plus que 38 mg. par 24 heures de matériel réagissant avec la phénylhydrazine. L'extraction par le butanol de l'échantillon urinaire déjà traité par la glycuronidase permet d'obtenir encore 20 mg. par 24 h. de 17-hydroxycorticoïdes (ce qui donne un total de 58 mg. par 24 h., voisin de 63 mg. par 24 h. obtenus après extraction butylique directe.

Cette technique, séduisante car facile à mettre en pratique, pour l'application clinique, nous apparaît cependant très critiquable sur le plan de la spécificité.

REDDY et coll. ont insisté sur l'importance du choix du butanol lui-même. Les auteurs emploient le butanol Merck très purifié ne contenant pas (tout au moins contenant un minimum) de chromogènes aldéhydiques ou cétoniques susceptibles d'interférer dans la réaction colorimétrique finale. SMITH, MELLINGER et PATTI ont proposé d'améliorer la technique de REDDY en vue d'éliminer l'action des chromogènes contenus dans le butanol ; ils préconisent l'emploi d'un butanol repurifié au laboratoire, un acide sulfurique plus dilué 1,27 : 1 au lieu de 1,63 ; 1 pour la réaction de PORTER et SILBER avec un temps d'incubation plus long. DEVIS propose d'inhiber les réactions parasites dues aux chromogènes du butanol en présence d'acide sulfurique, en employant la thiourée, substance à propriétés réductrices.

L'intervention de chromogènes contenus dans certains butanols même purifiés peut être incriminée pour expliquer ce phénomène constaté entre autres par DEVIS : les témoins acides des étalons sont parfois visiblement plus colorés que les étalons correspondants soumis à l'action du réactif de PORTER et SILBER. « La plupart des lots de n-butanol, même ceux réputés les plus purs, contiennent donc des chromogènes jaunissant au contact de l'acide sulfurique concentré. La réaction parasite se produit à un bien moindre degré avec le réactif SO_4H_2 -phénylhydrazine. La raison en est, croyons-nous, la formation de leucodérivés, ou une simple inhibition, due l'une ou l'autre, aux propriétés réductrices du réactif à la phénylhydrazine » (DEVIS).

Cependant nous nous demandons si la masse même des autres stéroïdes et autres composés entraînés par l'alcool butylique ne vient pas, elle aussi, interférer dans la réaction colorimétrique de manière plus ou moins complexe. Alors même que l'on aurait éliminé l'action des impuretés contenues dans le butanol, on aurait encore affaire aux « artefacts

stéroïdiques » de l'extrait butylique. Nous pouvons penser, en effet, que pour le témoin acide de l'extrait, se trouvent réalisées bien des conditions pour permettre le développement d'une véritable réaction de TALBOT (couleur jaune lue à 440 m μ alors que la réaction de PORTER-SILBER est lue à 410 m μ) avec les stéroïdes très divers contenus dans l'extrait — en particulier métabolites de la progestérone pendant la grossesse : température (60°) temps d'incubation (20 minutes) ; la seule différence avec la réaction de TALBOT est que celle-ci s'effectue avec de l'acide sulfurique pur, alors que la réaction de PORTER et SILBER requiert du SO₄H₂ 22 N environ. Il est vraisemblable que la réaction parasite donnée par ces chromogènes stéroïdiques en présence d'acide sulfurique 22 N est inhibée au moins partiellement dans le réactif SO₄H₂-phénylhydrazine, également du fait des propriétés réductrices de cette dernière substance. Le résultat c'est qu'on ne peut considérer la couleur du témoin acide de l'extrait comme l'absorption de base de la réaction de l'extrait avec le réactif de PORTER et SILBER. La différence essai A — essai B = (a) (voir calculs ci-dessus) devient sans signification. C'est ainsi que SMITH, MELLINGER et PATTI, opérant suivant les techniques de REDDY, trouvent des éliminations très basses ou même nulles des 17-hydroxycorticoïdes urinaires dans des cas normaux et des syndromes de Cushing, par suite d'une absorption exagérée du témoin sulfurique (essai B). De même, DEVIS, opérant également suivant REDDY, constate que le dosage est généralement impossible car dans ces conditions la densité du « blanc acide » est plus élevée que celle du « blanc Porter et Silber ». Les améliorations proposées par ces auteurs (utilisation d'un acide sulfurique plus dilué, utilisation de la thiourée) visent à corriger ces anomalies. Ces procédés tendent à minimiser, selon nous, l'intervention des artefacts contenus dans le butanol autant que celle des « artefacts stéroïdiques » contenus dans l'extrait.

Cependant, il faut encore tenir compte d'une autre source d'erreurs possible. L'alcool butylique extrait un grand nombre de substances et le réactif à la phénylhydrazine n'est que peu spécifique. C'est ainsi que l'acide glycuronique en particulier, constituant très important de l'urine, pourrait interférer pour une part non négligeable. Nous croyons qu'il vaut mieux pour faire un dosage suffisamment électif des 17-hydroxycorticoïdes urinaires avoir recours à des techniques peut-être plus complexes mais plus spécifiques, impliquant une hydrolyse enzymatique initiale et une chromatographie de l'extrait (selon par exemple les données de GLENN et NELSON) ; on y perd en rapidité et en facilité,

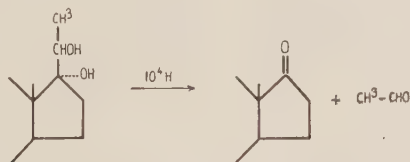
mais même au laboratoire clinique on ne peut toujours, sans dommage, faire fi des enseignements de la biochimie.

Techniques récentes utilisant les oxydants.

Cox propose le dosage simultané des stéroïdes formaldéhydogéniques et des stéroïdes acétaldéhydogéniques après oxydation périodique. En effet, vis-à-vis de l'acide périodique, le comportement d'un stéroïde en C21 diffère suivant la structure de sa chaîne latérale en 17 :

— Une molécule stéroïde à chaîne cétolique ou glycolique donne une molécule H.CHO et l'étio-acide correspondant.

— Une molécule stéroïde à chaîne 17, 20-dihydroxy-20-méthyl donne par scission totale de la chaîne latérale une molécule d'acétaldéhyde et une molécule 17-céto.



Ainsi après oxydation périodique, Cox détermine quantitativement le formol libéré par l'acide chromotropique (Mc FAYDEN), d'autre part l'acétaldéhyde : celui-ci recueilli dans une solution de bisulfite de sodium est dosé séparément suivant la méthode de MILLER et MUNTZ, modifiée par KOENEMANN et BARKER et SUMMERSON ; il s'agit d'une réaction colorimétrique caractérisant l'aldéhyde acétique par l'utilisation du parahydroxy-diphényl en solution alcaline aqueuse, dans l'acide sulfurique concentré en présence d'ions hydriques.

Cox à l'aide de cette technique obtient les chiffres suivants concernant l'élimination normale de 17, 20-dihydroxy-20-méthyl stéroïdes (corticoïdes acétaldéhydogéniques en mg. de prégnanetriol par 24 heures) :

— Extraction chloroformique à pH 1 avec lavage alcalin de 0,19 à 0,93 mg. par 24 heures.

— Extraction chloroformique après hydrolyse par la glycuronidase, avec lavage alcalin : 0,66 à 1,58 mg. par 24 heures.

— Extraction chloroformique à pH 1 sans lavage alcalin : 2,96 à 3,20 mg. par 24 heures.

— Extraction chloroformique après glycuronidase sans lavage alcalin : 3,60 à 4,80 mg. par 24 heures.

NORYMBERSKI et coll. ont préconisé une technique rap-
pelant par son principe la vieille méthode proposée par
TALBOT et EINTIGON : ceux-ci avaient proposé de doser les
17-hydroxycorticoïdes en les transformant en 17-C.S. par
oxydation périodique et en appliquant aux corps formés la
réaction de Zimmermann.

NORYMBERSKI reprend ce principe et propose comme
réactif d'oxydation non pas le périodate, mais le bismuthate
de potassium qui scinde les chaînes latérales suivantes :

17, 20, 21-triol,
17, 21-diol-20-one,
17, 20 glycol.

Ainsi le bismuthate convertit les « stéroïdes 17-cétogé-
niques urinaires » en 17-C.S. in situ dans l'urine même ;
ceux-ci peuvent être hydrolysés, extraits et caractérisés de
la manière courante. De cette façon les auteurs prétendent
couper court aux difficultés habituelles de l'hydrolyse et de
l'extraction des corticoïdes urinaires en les transformant en
17-cétostéroïdes à caractéristiques plus avantageuses.

Le principe de la méthode de NORYMBERSKI comprend
deux déterminations :

— Détermination des 17-C.S. proprement dits, après
hydrolyse chlorhydrique 10 minutes à 100° et extraction par
le chlorure de méthylène, par la réaction de Zimmermann,
variante Callow.

— Détermination des « 17-C.S. totaux » : les stéroïdes
17-cétogéniques sont oxydés dans le milieu urinaire par le
bismuthate, en présence d'acide acétique glacial — puis
l'hydrolyse, l'extraction, la caractérisation sont conduites
comme pour les 17-C.S.

Les stéroïdes 17-cétogéniques correspondent à la diffé-
rence entre les chiffres correspondant aux 17-C.S. totaux et
les 17-C.S. proprement dits. La moyenne d'élimination
journalière mesurée sur 15 cas est de l'ordre de 10,8 mg.
par 24 h. (13,6 chez l'homme, 8,9 chez la femme). Les chif-
fres sont abaissés (moins 40 %) au cours des maladies
rhumatismales ne suivant pas de traitement par la cortisone
ou l'A.C.T.H., et très augmentés au cours des traitements à
l'acétate de cortisone (de 3 à 4 fois les chiffres normaux).
Ils ne sont pas modifiés au cours de la grossesse.

Cette technique détermine donc elle aussi des 17-hydro-
xystéroïdes. Il est intéressant de confronter les résultats
obtenus à l'aide de cette méthode avec ceux obtenus à l'aide
de la réaction de PORTER et SILBER, qui ne dose que le grou-
pement dihydroxyacétone en 17 (travaux de KINSELLA et coll.
sur la tétrahydro-E séparée par chromatographie sur papier,

déterminations des 17-hydroxycorticoïdes urinaires par GLENN, NELSON et coll.) ; ces travaux utilisant la phénylhydrazine indiquent un ordre de grandeur plus faible gravitant autour du chiffre moyen de base rapporté par KINSELLA et coll. pour la tétrahydro-cortisone (4,5 mg./24 h.), qui en somme est le métabolite majeur des stéroïdes PORTER et SILBER positifs.

Le travail de NORZYMBERSKI permet l'inventaire d'autres stéroïdes qui apparaissent comme pondéralement importants : stéroïdes à chaînes latérales 17, 20, 21-triol ; 17, 20-glycol-20-méthyl, qui ne sont par ailleurs ni réducteurs ni intégralement formaldéhydogéniques.

La technique appliquée au laboratoire de la clinique obstétricale

La technique appliquée au laboratoire de la Clinique Obstétricale dose les corticoïdes réducteurs de l'extrait lipidique total urinaire. Elle utilise le réactif phosphomolybdique de Folin-Wu, dont la réaction conduit à la formation de bleu de molybdène, colorant uniformément le milieu, le maximum d'absorption se situant vers 650 mμ. Les modalités de cette réaction appliquée au dosage des corticoïdes urinaires (phospho-reducing lipids ou P.R.L.) ont été bien établies par un travail très complet de HEARD et SOBEL. Il était normal que nous choissions ce type de détermination qui est fidèle et sensible, et bien qu'il ait été critiqué pour son manque de spécificité.

A ce sujet, nous rappellerons (voir page 83) l'étude statistique de ROMANOFF, PLAGER et PINCUS qui donne la préférence à la méthode de HEARD et SOBEL après l'avoir comparée avec les méthodes d'oxydation périodique. Nous ne pensons pas que l'acide périodique, le réactif de PORTER et SILBER, la 2, 4-dinitro-phénylhydrazine apportent davantage de garanties de sécurité et de spécificité que l'acide phosphomolybdique. De plus, de COURCY et coll., par leurs études à l'aide de la chromatographie sur papier du matériel réducteur de l'extrait lipidique urinaire, constatent que très peu de substances réductrices non stéroïdiques peuvent venir interférer dans les résultats après hydrolyse enzymatique.

HEARD, SOBEL et VENNING ont adapté la réduction du réactif phosphomolybdique au dosage des corticoïdes urinaires qu'ils extraient de l'urine acidifiée préalablement à pH 1, à l'aide d'un mélange extemporané éther-chloroforme 4 : 1. L'extrait éthéro-chloroformique lavé à la soude, puis à l'eau, est déshydraté sur SO_4Na_2 puis évaporé à sec. Sur l'extrait sec est effectuée la réaction colorimétrique.

Nous avons déjà discuté les inconvénients inhérents à cette simple extraction de l'urine à froid, même après acidification à pH 1. Rappelons :

— Le caractère trop fragmentaire des résultats du dosage du fait d'une extraction non quantitative qui ne concerne que la fraction « libre » des corticoïdes.

— Les erreurs (parfois très importantes) qui proviennent d'une diminution physiologique anormale de la conjugaison, et surtout d'une hydrolyse passive des conjugués dans une urine conservée, qui font croire « à un excès absolu de corticoïdes ».

D'où l'opportunité d'un temps d'hydrolyse préalable des complexes non liposolubles où sont engagés les stéroïdes urinaires :

— Permettant un rendement nettement accru en matériel dosable.

— Permettant des dosages plus sûrement interprétables.

— Éliminant toutes les causes d'erreurs inhérentes aux variations imprévisibles et incontrôlables du taux de conjugaison des stéroïdes de l'urine.

Dès 1952, M. BETHOUX a tenté de résoudre cette question. A ce moment, seule l'hydrolyse enzymatique avait cours, et encore ne se limitait-elle qu'à la recherche entre les mains des seuls spécialistes. L'hydrolyse chlorhydrique à chaud — type 17-C.S. — était pratiquement refusée par tout le monde en raison, nous l'avons dit, de la sensibilité jugée extrêmement grande des corticoïdes à la chaleur et aux acides (surtout si les deux sont associés). Seul RIVOIRE présentait un travail où l'hydrolyse chlorhydrique à chaud est mise en pratique pour l'extraction et la détermination quantitatives des corticoïdes formaldéhydogéniques, travail qui n'est pas parvenu à infirmer la notion de nocivité prêtée à l'hydrolyse chlorhydrique.

Les mauvais résultats du procédé de RIVOIRE (rendement en matériel formaldéhydogénique à peine doublé alors que la β -glycuronidase multiplie ce rendement par 10 ou 15) sont dus à une perte excessive en corticoïdes, due vraisemblablement à la conjugaison de plusieurs facteurs nocifs : hyperacidité du milieu (15 % de ClH pur) ; température et

temps de chauffage (30 minutes au B.M. à 100°) qui s'effectue en phase aqueuse.

M. BETHOUX a pensé qu'il fallait adoucir les conditions du procédé de RIVOIRE pour en tirer un mode d'hydrolyse « ménagée » :

— Acidité du milieu ramenée à 10 %.

— Température de chauffe moins élevée et temps de contact entre stéroïdes et acides réduits : en effet, hydrolyse et extraction sont combinées et se font simultanément ; l'hydrolyse s'effectue en présence de chloroforme, par suite, à la température même d'ébullition du chloroforme (61°5) ; d'autre part, ce procédé permet de soustraire du milieu acide les stéroïdes au fur et à mesure de leur libération. Ainsi avons-nous pu accroître considérablement le rendement en corticoïdes réducteurs dans nos extraits.

Rappelons d'autre part certains travaux récents de DEVIS qui tendent à revenir sur les notions acceptées jusqu'alors sur la thermolabilité des corticoïdes, et à faire admettre l'usage éventuel de l'hydrolyse chlorhydrique à chaud pour l'extraction quantitative des corticoïdes (CHI à 10 %, à 100°, 10 minutes). Cependant cet auteur, pour sa part, conteste la validité d'un tel procédé : car il pourrait altérer le pouvoir réducteur de certains stéroïdes, comme la cortisone, en l'augmentant (par suite de la disparition supposée du groupement oxygéné en 11 par exemple, qui inhibe partiellement le pouvoir réducteur). Nous pensons que ce fait n'est pas un inconvénient majeur ; la plus grande « erreur » que l'on fait en appréciant « les corticoïdes réducteurs », c'est de les exprimer en équivalents de désoxycorticostérone, qui est le composé le plus réducteur de tous les corticostéroïdes ; on n'a bien toujours ainsi qu'un index de pouvoir réducteur englobant dans une même donnée numérique un grand nombre de stéroïdes à pouvoir réducteur très différent, ne serait-ce que du fait des modifications diverses qu'ils ont subies au cours de leur métabolisme entre l'étape corticosurrénale et l'étape finale cortico-urinaire.

EXPOSÉ DE LA TECHNIQUE DE M. BETHOUX

Réactifs nécessaires.

— Chloroforme pur R.P. à 0,5 % d'alcool ou chloroforme redistillé : il convient d'éliminer tout lot de chloroforme présentant un pouvoir réducteur.

— Ether chimiquement pur (éther anesthésique SPECIA).

- Acide chlorhydrique pur R.P.
- Soude N/10 glacée.
- Sulfate de sodium anhydre.
- Réactif phosphomolybdique (selon FOLIN-WU) :

Acide molybdique	35 g.
Tungstate de sodium	5 g.
Soude au 1/10	200 ml.
Eau distillée	200 ml.

 (Faire bouillir 40 minutes).

Après refroidissement, diluer à 350 ml. avec de l'eau distillée et ajouter :

- | | |
|---------------------------------|---------|
| Acide phosphorique à 85 % | 125 ml. |
| Eau distillée q.s. pour | 500 ml. |

Le réactif phosphomolybdique est obtenu par mélange à parties égales du réactif précédent avec de l'acide acétique glacial, qualité analytique : il se forme un précipité blancâtre qui se dissout facilement par agitation.

Mode opératoire.

1^{er} TEMPS : HYDROLYSE ET EXTRACTION.

Dans un erlenmeyer rôdé de 250 ml., on met une prise d'essai de 30 ml. prise sur un échantillon urinaire de 24 h. ; cette prise d'essai est acidifiée par 10 % d'acide chlorhydrique pur R.P., puis est additionnée de 30 ml. de chloroforme rectifié.

On place l'erlen pendant 20 minutes sous réfrigérant à reflux dans un bain-marie, réglé à la température minima entretenant l'ébullition du chloroforme (on peut régulariser cette ébullition à l'aide de perles de verre, qui permettent un meilleur brassage), après quoi on sépare la couche chloroformique.

On fait une deuxième extraction chloroformique de 15 minutes et une troisième de 10 minutes, toujours suivant le même schéma : l'extraction chloroformique est combinée les trois fois avec l'hydrolyse chlorhydrique à chaud. Les trois extraits sont réunis.

2^e TEMPS : PURIFICATION DE L'EXTRAIT.

L'extrait chloroformique (environ 90 ml.) est soumis :

— D'abord à quatre lavages successifs à la soude N/10 (15 ml. chaque fois) ; la soude est rejetée. Si nécessaire, on peut faire un cinquième lavage, et éventuellement un

sixième ; en fait, il faut limiter à quatre lavages alcalins dans le plus grand nombre possible de cas. Il peut se former, en particulier aux deux premiers lavages, des émulsions, qu'il convient de casser par centrifugation.

Puis à deux lavages successifs — au maximum 3 de 20 ml. d'eau distillée chacun.

L'extrait chloroformique est débarrassé de toute trace d'eau par environ 1,5 gr. de SO_4Na_2 anhydre, qu'on élimine en filtrant l'extrait sur coton préalablement lavé avec du chloroforme rectifié.

On chasse le chloroforme par distillation sous vide. Notons à ce propos qu'il est licite d'activer cette distillation surtout à son début en chauffant légèrement au bain-marie les erlens de distillation contenant les extraits. La distillation à température ordinaire, faite pour réduire à néant tout risque de dégradation thermique des molécules stéroïdes, a l'inconvénient par ailleurs d'être fort longue et de ne permettre de récupérer que le plus petit volume de solvant — lequel est en général très coûteux.

Le résidu sec est repris par quelques ml. d'éther pur et transféré dans un tube à essai qui servira pour la réaction colorimétrique finale : il faut reprendre par l'éther par petites fractions (1 à 2 ml.) de façon à bien rincer les parois de l'erlen de distillation, jusqu'à avoir un volume total de 8 à 10 ml. d'éther. L'éther est facilement évaporé sous vide à la température ordinaire.

3° TEMPS : ESTIMATION COLORIMÉTRIQUE FINALE.

Nous suivons ici les indications données par HEARD et SOBEL : le résidu sec est dissous dans 2 ml. de réactif phosphomolybdique préparé suivant FOLIX-WU. Il n'est pas nécessaire de reprendre au préalable par 1/10 ml. d'acide acétique. Le résidu sec se dissout bien dans le réactif même.

On porte le tube au B.M. bouillant, rigoureusement réglé avec niveau constant, pendant exactement 60 minutes, puis on refroidit le tube et on ajoute 8 ml. de réactif destiné à diluer et à stabiliser la coloration obtenue. On peut alors pratiquer la mesure photométrique ; nous utilisons le photolorimètre BONNET-MAURY, écran n° 16 (650 m μ). Cet appareil est étalonné avec des quantités croissantes de désocycorticostérone en solution dans l'acide acétique pur à raison de 0,1 ml. par réaction et correspondant à 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 gammas de désocycorticostérone libre.

Il convient d'effectuer un témoin réactif : dans un tube à essai on met :

0,1 ml. d'acide acétique pur.

2 ml. de réactif à l'acide phosphomolybdique.

On porte ce tube au bain-marie bouillant 60 minutes ; on note une très légère coloration jaunâtre, qui n'est plus sensible après addition des 8 ml. complémentaires de réactif.

Applications pratiques de la technique de Béthoux

MOYENNES D'ÉLIMINATION JOURNALIÈRE NORMALE

16 dosages effectués sur les urines de 24 heures de 16 personnes normales différentes, nous ont donné les chiffres suivants, concernant l'élimination normale :

<i>Sujet</i>	<i>Sexe</i>	<i>Corticoïdes réducteurs en mg/24 h.</i>
1	M	15,3
2	M	10,6
3	M	14,5
4	M	16,8
5	M	15,8
6	M	22,7
7	F	10,7
8	F	15,3
9	F	13,9
10	F	18,0
11	F	19,3
12	F	14,1
13	F	8,6
14	F	5,1
15	F	13,2
16	F	15,5

Moyenne générale de l'élimination normale en 24 heures
des 16 cas étudiés : 14,34 mg./24 H.

Ecart type : 4,07

Coefficient de variation : 28,3 %

En fait, on constate une élimination légèrement supérieure pour les sujets du sexe masculin :

— Elimination chez l'homme normal :

Moyenne :	15,9 mg./24 H.
Ecart type :	3,5
Coefficient de variation :	22,0 %

-- Elimination chez la femme normale :

Moyenne :	13,3 mg./24 H.
Ecart type :	4,04
Coefficient de variation :	30,3 %

17 dosages quotidiens consécutifs ont été effectués chez une même femme normale :

<i>Jour</i>	<i>Diurèse</i>	<i>Corticoïdes réducteurs en mg/24 h.</i>
1	1.510	25,30
2	1.250	14,97
3	1.020	18,56
4	950	11,77
5	840	10,21
6	1.480	24,48
7	780	10,45
8	880	10,60
9	1.510	14,73
10	1.090	8,60
11	1.350	7,24
12	1.275	6,72
13	1.215	14,20
14	880	13,00
15	1.055	13,90
16	755	8,60
17	950	11,80

Moyenne :	13,22 mg./24 H.
Ecart type :	5,18
Coefficient de variation :	39,1 %

On peut dire que, en moyenne, la zone de dispersion des chiffres normaux d'élimination journalière des corticoïdes réducteurs s'étend entre les deux valeurs limites approximatives de 8 mg./24 H. et de 18 mg./24 H. En fait, nous constatons assez fréquemment chez des sujets normaux des taux d'élimination nettement en deçà ou au-delà de cette zone.

COMPARAISON DE L'HYDROLYSE CHLORHYDRIQUE ET DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE

Il est intéressant de comparer les résultats que nous avons obtenus avec l'hydrolyse chlorhydrique telle que la préconise M. BETHOUX, avec ceux qu'obtiennent KINSELLA et GLICK appliquant une hydrolyse bactérienne provoquée par *E. Coli*. 16 dosages effectués chez des sujets différents donnent comme chiffre moyen d'élimination normale par 24 heures 15,8 mg., avec un écart type égal à 3,9 (coefficient de variation : 24,6 %). D'autre part, JAYLE dosant les corticoides réducteurs trouve après hydrolyse bactérienne :

— Pour 14 dosages effectués chez des femmes normales de 25 à 45 ans une moyenne de 12,75 mg./24 H. (extrêmes 9,9 et 20,8) ;

— Pour 7 dosages effectués chez des hommes normaux de 25 à 40 ans une moyenne de 16,5 mg./24 H. (extrêmes 11,5 et 22) ;

et après hydrolyse par le suc digestif d'escargot :

— Pour 26 dosages concernant des femmes normales, une moyenne de 10,5 mg./24 H. (extrêmes 5,5 et 21) ;

— Pour 12 dosages concernant des hommes normaux, une moyenne de 16,3 mg. par 24 heures (extrêmes 8,7 et 25,9).

Au laboratoire de la Clinique Obstétricale, nous avons nous-mêmes tenu à procéder à une comparaison systématique entre hydrolyse chlorhydrique et hydrolyse enzymatique. Nous nous sommes servis en la circonstance de suc digestif d'*Hélix Pomatia*, suivant les indications de HENRY, JARRIGE et THEVENET. Nous avons mis en pratique l'hydrolyse enzymatique et l'extraction suivant les modalités ci-après :

Une prise d'essai de 30 ml. prélevée sur une urine de 24 heures est tamponnée à pH 5 (5 ml. tampon acétate M/5 + quelques gouttes de $\text{CH}_3 - \text{COOH}$ au 1/10 ; indicateur rouge de méthyle) additionnée de 0,5 ml. de suc digestif d'*Hélix Pomatia*, et incubée pendant 48 heures à 37°.

Après incubation, on procède à l'extraction chloroformique, sans acidification préalable : trois extractions continues de 15 minutes chacune, avec chaque fois 20 ml. de CHCl_3 (mêmes précautions que précédemment) au tapis roulant. Les extraits chloroformiques réunis sont soumis à 4 lavages alcalins (10 ml. NaOH N/10), 3 lavages aqueux (10

ml. chaque fois), puis déshydratés sur SO_4Na_2 et distillés comme après hydrolyse chlorhydrique. La réaction colorimétrique se fait dans les mêmes conditions.

Résultats comparés des deux procédés d'hydrolyse.

Nous avons effectué deux séries de dosages comparatifs, de 2 jours en 2 jours chez deux femmes enceintes normales.

CAS N° 1 (D.R. : 1/7/53) : chiffres exprimant des mg/24 h.

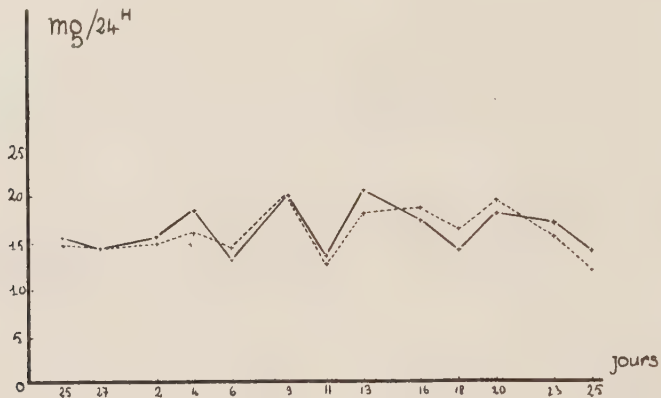
Date	Diurèse	Hydrolyse ClH à chaud	Hydrolyse enzymatique
24-25/2/54	700	15,19	15,68
26-27/2/54	770	14,47	14,47
1-2/3/54	670	15,14	15,61
3-4/3/54	800	16,0	18,64
5-6/3/54	600	14,22	13,32
8-9/3/54	850	19,97	19,97
10-11/3/54	580	12,87	13,74
12-13/3/54	680	18,07	20,4
15-16/3/54	780	18,87	17,62
17-18/3/54	730	16,35	14,23
19-20/3/54	750	19,5	18,3
22-23/3/54	850	15,64	17,0
24-25/3/54	600	12,12	13,98

CAS N° 2 (D.R. : 1/7/53).

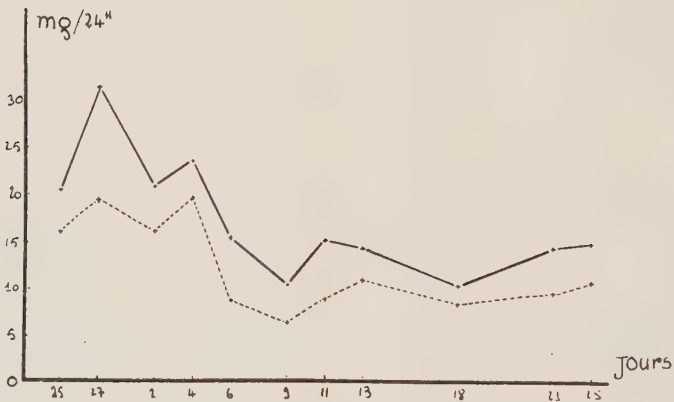
Date	Diurèse	Hydrolyse ClH à chaud	Hydrolyse enzymatique
24-25/2/54	950	15,96	20,42
26-27/2/54	1.370	19,72	31,09
1-2/3/54	1.000	16,2	20,8
3-4/3/54	1.270	19,43	23,62
5-6/3/54	1.000	8,7	15,5
8-9/3/54	420	6,42	10,6
10-11/3/54	420	9,52	15,34
12-13/3/54	660	11,08	14,65
17-18/3/54	660	8,31	10,23
22-23/3/54	700	9,24	14,56
24-25/3/54	700	10,36	14,7

Le cas n° 1 montre une très bonne concordance entre les chiffres donnés par l'hydrolyse enzymatique et l'hydrolyse chlorhydrique. Les courbes correspondantes sont pratiquement superposables, l'écart entre points correspondants

ne dépassent jamais celui que l'on est en droit d'attendre d'après les caractéristiques de fidélités de la méthode de BETHOUX.



Cas n° 1.

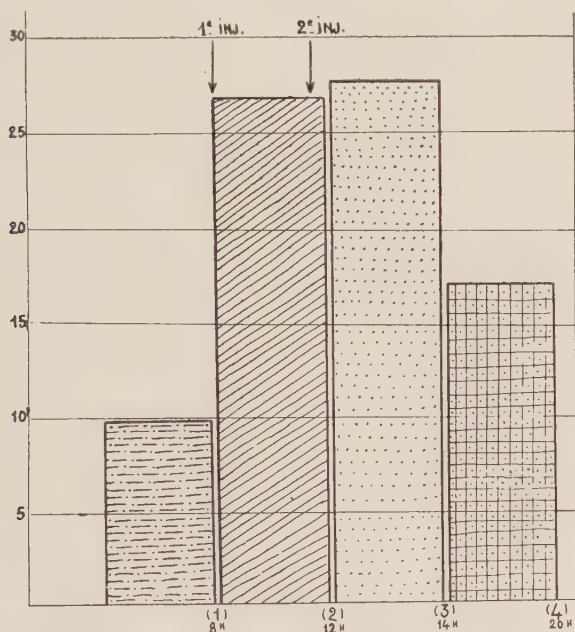


Cas n° 2.

Le cas n° 2 montre une moins bonne concordance, l'hydrolyse chlorhydrique donnant des résultats constamment inférieurs à ceux de l'hydrolyse enzymatique. Cependant, il est incontestable que les deux courbes restent parallèles et que les chiffres obtenus par l'un ou l'autre procédé sont tout de même d'un ordre de grandeur comparable.

ELIMINATION DES CORTICOIDES URINAIRES APRÈS ADMINISTRATION D'A.C.T.H.

Pour se rendre compte si les valeurs des corticoïdes réducteurs trouvées dans l'extrait urinaire préparé par la technique de BETHOUX se rapportaient bien à l'activité corticosturrénale, nous avons étudié leur courbe d'élimination après administration intra-veineuse d'A.C.T.H. Voici les modalités pratiques de la méthode que nous avons utilisée :



Elimination des corticoïdes après injection d'ACTH
Graphique des moyennes d'élimination chez 6 malades.

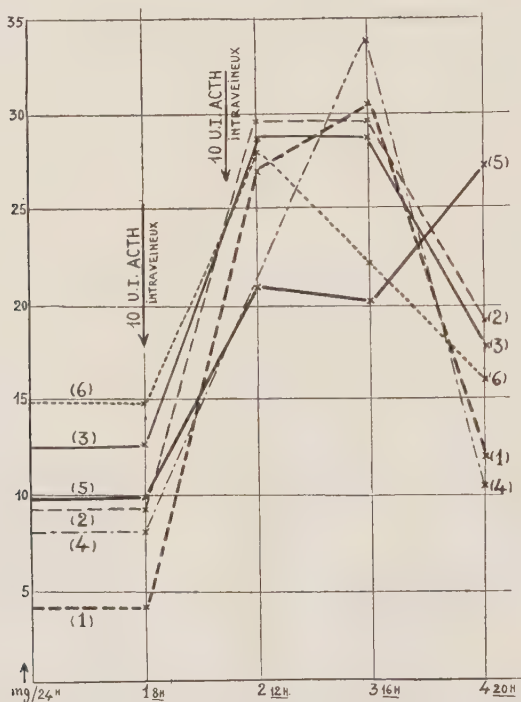
La veille du jour où est effectué le test, le sujet expérimenté ne doit recevoir ni cortisone, ni A.C.T.H. On récolte à partir de 20 heures jusqu'à 8 heures le lendemain la totalité des urines de la nuit que l'on met à part (échantillon urinaire n° 1).

(1) Nous remercions le Laboratoire CHOAY qui a mis à notre disposition, gracieusement, plusieurs échantillons d'A.C.T.H.

A 8 heures, on pratique une première injection intra-veineuse de 10 U.I. d'A.C.T.H. (1).

A 11 heures, on pratique une deuxième injection intra-veineuse de 10 U.I. d'A.C.T.H.

Il convient de respecter ce délai de trois heures ; d'autre part, les injections doivent être poussées lentement.



*Elimination des corticoïdes après injection d'ACTH
Courbes d'élimination chez 6 malades.*

On recueille rigoureusement la quantité totale des urines de la journée en trois échantillons bien séparés et dûment numérotés :

- de 8 heures à 12 heures (échantillon urinaire n° 2)
- de 12 heures à 16 heures (échantillon urinaire n° 3)
- de 16 heures à 20 heures (échantillon urinaire n° 4)

On fait boire au sujet à 8 heures, 200 ml. de liquide, de même qu'à 12 heures. Le sujet peut manger une biscotte le matin et un repas léger à midi.

Au laboratoire de la Clinique Obstétricale, nous avons pratiqué ce test, ainsi conduit, chez 6 sujets normaux. Les

résultats sont exprimés dans le tableau ci-dessous en mg./24 H.

Sujet	Sexe	Echantillon urinaire n° 1 (20 h.-8 h.)	Echantillon urinaire n° 2 (8 h.-12 h.)	Echantillon urinaire n° 3 (12 h.-16 h.)	Echantillon urinaire n° 4 (16 h.-20 h.)
1	F	4,0	27,0	30,6	12,1
2	F	9,2	29,5	29,7	19,1
3	M	12,4	28,8	29,0	17,6
4	F	8,0	—	34,8	10,3
5	F	9,8	20,9	20,1	27,0
6	F	14,8	28,0	22,0	16,0
Moyenne :		9,7 $\pm$ 3,4	26,8 $\pm$ 3,05	27,7 $\pm$ 5,0	17,0 $\pm$ 5,4
% d'augm. :			176	185	75

Ainsi l'élimination des corticoïdes réducteurs est augmentée de façon significative et caractéristique après l'administration intra-veineuse d'A.C.T.H. L'intensité de cette augmentation peut varier suivant les sujets, signant vraisemblablement la réactivité particulière de la cortico-surrénale chez les sujets normaux différents (voir travaux de BLISS, NELSON et SAMUELS). Cependant nous voyons que les cas 1, 2, 3, 4, 6 présentent une similitude remarquable : dans les cas 1, 2, 3, 6 le résultat du dosage effectué sur l'échantillon 2 recueilli entre 8 heures et 12 heures (injections faites à 8 heures et à 11 heures) donne des chiffres extrêmement voisins compris entre 27 et 29,7. Le cas 4 offre une particularité : la courbe correspondante ne comprend que 3 points, car il n'y a pas eu de diurèse entre 8 heures et 12 heures (il est nécessaire de faire boire abondamment le sujet testé à 8 heures dès la première injection d'A.C.T.H.) ; il est vraisemblable que le niveau relativement élevé (34,8) du point correspondant à l'essai 3 (12 h. à 16 h.) pour ce cas n° 4 figure la somme des corticoïdes excrétés entre 12 heures et 16 heures et des corticoïdes excrétés entre 8 heures et 12 heures, lesquels n'ont pu être objectivés à temps. Un calcul géométrique appliqué à la courbe d'élimination permet de considérer que ce chiffre de 34,8 correspond à un taux de 28 mg. en 24 heures pour la période de 8 h. à 12 h. d'une part et pour celle de 12 h. à 16 h. d'autre part : on retrouve ainsi une courbe rigoureusement comparable à celles représentant les cas 1, 2 et 3.

L'activation surrénale varie autant en grandeur qu'en durée. Les cas 1, 2, 3 et 4 (après correction) montrent une activation entretenue s'objectivant par un plateau entre l'essai 2 et l'essai 3. Le cas n° 6 accuse un fléchissement dès l'essai 3. Pour ces cinq cas (1, 2, 3, 4, 6), le dernier dosage effectué — essai 4 — donne des résultats se retrouvant dans la zone de dispersion des chiffres normaux, à un niveau généralement plus élevé que celui du premier essai, qui,

il est vrai, dose l'élimination nocturne des corticoïdes (voir ci-dessous). Le cas n° 5 se traduit par une courbe d'un type légèrement différent, comme si l'effet de la stimulation de la seconde injection d'A.C.T.H. s'était manifesté avec un certain retard.

Il est intéressant de comparer ces résultats à ceux publiés récemment par KINSELLA et GLICK, utilisant également un test à l'A.C.T.H. pour justifier leur technique appliquant l'hydrolyse enzymatique à la détermination des corticoïdes réducteurs.

Nous pensons donc — en accord avec ces auteurs — que la détermination des corticoïdes réducteurs « totaux », après hydrolyse chlorhydrique ou après hydrolyse enzymatique (que nous n'avons pu expérimenter dans ce cas), permet une exploration fonctionnelle valable de la corticosurrénale : l'A.C.T.H. intra-veineux entraîne une augmentation des corticoïdes urinaires réducteurs, à la fois significative, constante et rapide.

Si nous avons effectué ces tests à l'A.C.T.H. pour mettre à l'épreuve notre technique, on peut, à l'inverse, envisager une épreuve clinique de la valeur fonctionnelle de la surrénale, par l'étude de sa réactivité à la corticostimuline hypophysaire. JAYLE présente ainsi cette question :

« L'exploration fonctionnelle du cortex surrénal ne « bénéficie pas seulement de la découverte de procédés « nouveaux d'hydrolyse des urines et de nouvelles réac- « tions plus ou moins spécifiques des métabolites urinaires « des hormones surrénaliennes ; THORN et ses collabora- « teurs en standardisant l'administration de la corticotro- « phine par voie intra-veineuse nous ont donné le moyen « de soumettre la corticosurrénale à une excitation définie « et, par l'amplitude de sa réponse, d'évaluer sa capacité « fonctionnelle.

JAYLE appliquant la perfusion intra-veineuse suivant les données de THORN (perfusion de 25 U.I. d'A.C.T.H. diluées dans 500 ml. de sérum physiologique ou de sérum glucosé en 8 heures à raison de 60 ml. par heure, avec collecte des urines pendant les 24 heures suivant le début de l'injection) constate un accroissement d'élimination des corticoïdes réducteurs correspondant en moyenne à 135 % de l'élimination témoin. JAYLE n'apprécie que peu la détermination des corticoïdes réducteurs et préfère, quant à lui, la réaction de GORNALL à la 2,4-dinitro-phénylhydrazine (pourcentage d'augmentation 120 %) ou la technique à la phénylhydrazine suivant REDDY et coll. (pourcentage d'augmentation 190 %). De toutes façons, d'après ces données numériques, JAYLE conclut « ...que s'il est encore trop tôt pour standardiser « d'une façon définitive tous les éléments de l'exploration

« fonctionnelle biochimique du cortex surrénalien par le
 « test à l'A.C.T.H., on peut néanmoins affirmer que le pro-
 « blème de cette exploration est actuellement résolu. La
 « perfusion intra-veineuse préconisée par THORN et ses
 « collaborateurs donne une garantie totale du point de vue
 « de l'excitation de la glande endocrine.

Il est vraisemblable que la technique que nous avons suivie nécessitant deux injections intra-veineuses à 3 heures d'intervalle, de 20 U.I. en tout, avec étude de la courbe d'élimination des corticoïdes toutes les 4 heures, permet une étude toute aussi pertinente que la perfusion et pratiquement plus commode ; elle ne s'étale que sur 24 heures contre 3 jours pour la technique de perfusion. On peut objecter que les injections intra-veineuses d'A.C.T.H. peuvent occasionner des shocks. En fait il s'agit là d'une question de purification des préparations hormonales ; de plus nous préconisons l'injection lente. Notons que nous n'avons eu aucun accident avec l'A.C.T.H. CHOAY.

VARIATIONS DE L'EXCRÉTION DES CORTICOÏDES SUIVANT LA PÉRIODE DU NYCTHÉMÈRE

Cette question a déjà fait l'objet de travaux antérieurs : travaux de ROMANOFF, utilisant soit la méthode de TALBOT, soit la méthode de HEARD, SOBEL et VENNING (chiffres rapportés en mg./24 h. : 2,11 la nuit ; 2,62 le matin ; 2,51 le jour), soit une technique à l'acide périodique : ces travaux font ressortir une élimination légèrement supérieure pour la journée dont le maximum se situe le matin ; les différences rapportées nous paraissent cependant peu significatives. Plus évocateurs sont les résultats récemment rapportés par GLENN, NELSON et coll. dosant les 17-hydroxycorticoïdes urinaires par la phénylhydrazine après séparation chromatographique : exemple pris à GLENN, NELSON et coll. :

Sujet		17-OH	17-CS	Vol. urinaire
S	jour	3,6	5,9	660
	nuit	0,4	3,0	420
	jour	4,1	7,2	590
	nuit	1,0	2,4	485
J	jour	5,8	10,0	995
	nuit	0,6	2,4	425
	jour	5,1	9,4	825
	nuit	0,5	2,4	425
	jour	7,0	10,4	1.100
	nuit	0,7	2,2	300

On voit, d'après ces résultats, la différence importante existant entre l'élimination diurne et l'élimination nocturne : de manière constante, l'élimination de jour est plusieurs fois supérieure à l'élimination de nuit.

Au laboratoire de la Clinique Obstétricale, nous avons étudié les variations de l'élimination des corticoïdes réducteurs suivant la période du nyctémère. Chez quatre personnes différentes, nous avons constaté les chiffres suivants ramenés au mh/24 h. (urines collectées de 12 heures en 12 heures) :

	<i>Jour</i> (8 h.-20 h.)	<i>Nuit</i> (20 h.-8 h.)
1	17,76	10,50
2	8,80	8,42
3	6,80	3,40
4	29,60	15,80
Moyenne :	15,74 ± 9	9,5 ± 4,4

Neuf dosages effectués chez la même femme normale, donnent :

<i>Dosages</i>	<i>Volume urinaire</i> <i>quantité indiquée</i> <i>pour 12 h.</i>	<i>Cort. réducteurs</i> <i>en mg/24 h.</i>
1	jour 540	14,4
	nuit 410	9,15
2	jour 530	12,36
	nuit 310	8,06
3	jour 940	31,33
	nuit 540	17,64
4	jour 270	6,9
	nuit 510	14
5	jour 490	13,6
	nuit 390	7,6
6	jour 850	14,5
	nuit 660	14,9
7	jour 715	12,2
	nuit 375	5,0
8	jour 760	10,0
	nuit 590	4,48
9	jour 750	7,7
	nuit 525	5,74

Moyennes (en mg/24 h.) :

jour	14,6 ± 6,8
nuit	9,4 ± 4,2

Enfin, nous pouvons tenir compte pour le dosage des urines de la nuit des 6 sujets normaux pour lesquels nous avons effectué un test à l'A.C.T.H. (voir tableau, page 94). La moyenne de ces dosages donne, en mg./24 H. $9,7 \pm 3,4$.

Ainsi nos propres résultats font apparaître également une élimination des corticoïdes plus importante pendant la journée que pendant la nuit. Les moyennes des trois séries de dosages effectués sur les urines de la nuit, dont nous pouvons faire état, donnent les chiffres suivants (exprimant des mg., 24 H.) :

- $9,5 \pm 4,4$
- $9,4 \pm 4,2$
- $9,7 \pm 3,4$

chiffres inférieurs à ceux exprimant la totalité de l'élimination des corticoïdes réducteurs en 24 heures :

- $14,34 \pm 4,07$
- $15,9 \pm 3,5$ (pour l'homme)
- $13,3 \pm 4,04$ (pour la femme).

Ce fait est significatif et revêt certainement une importance pratique très grande. L'élimination des corticoïdes dans la journée reflète l'activité d'une surrénale soumise aux influences stressantes, inhérentes à l'état de veille, de plus ou moins grande intensité suivant le mode de vie (par exemple, activité professionnelle et conditions de travail).

RIVOIRE a étudié l'influence stressante des agents physiques et constate qu'une séance de radiothérapie (250 r) provoque une élimination accrue des corticoïdes formaldéhydrogéniques de la même façon que l'injection intra-veineuse de 5 mg. d'A.C.T.H. De même, après électro-choc, la courbe d'élimination des corticoïdes formaldéhydrogéniques — dosés toutes les trois heures — accuse une élévation rapide et parallèle à celle que donne une injection intra-veineuse de 10 mg. d'A.C.T.H.

BURGARD a étudié l'influence des bruits et vibrations intenses auxquels sont soumis les metteurs au point de moteurs et de réacteurs d'aviation au banc d'essais. Il cherche à analyser la nature des troubles non spécifiques constatés chez ces ouvriers, par une méthode expérimentale, en soumettant des animaux à des « stress traumatique-vibratoire » d'intensité graduée : les stress de ce type — pour une gamme d'intensité donnée — font apparaître des manifestations faisant la preuve d'une activité anormale du couple hypophyso-surrénalien (hyperactivité acidophile de l'hypophyse ; cortex surrénal hyper-actif ; éosinopénie très marquée).

Ainsi le dosage des corticoïdes de la journée fait apprécier surtout la réactivité du couple hypophyso-surrénal aux multiples stress occasionnés par l'état de veille.

A la Clinique Obstétricale, nous avons pu faire une expérience qui corrobore ce fait : nous avons effectué à deux reprises des dosages des corticoïdes urinaires chez trois stagiaires assurant ensemble une garde de 24 heures au Pavillon K.

PREMIÈRE SÉRIE DE DOSAGES :

<i>Sujet</i>	<i>Sexe</i>	<i>Diurèse</i>	<i>Cort. réducteurs</i>	
			<i>mg/24 h.</i>	<i>mg/l. d'urine</i>
1	M	800	13,4	16,8
2	M	850	25,5	30,0
3	M	850	21,7	25,5

DEUXIÈME SÉRIE DE DOSAGES (mêmes sujets) :

<i>Sujet</i>	<i>Sexe</i>	<i>Diurèse</i>	<i>Cort. réducteurs</i>	
			<i>mg/24 h.</i>	<i>mg/l. d'urine</i>
1	M	820	13,0	15,8
2	M	1.200	18,5	15,4
3	M	1.000	18,4	18,4

Nous remarquons les taux élevés des corticoïdes de la première série de dosages — surtout si l'on se réfère à l'excrétion par litre d'urine (diurèse relativement faible), — correspondant à une garde particulièrement « chargée » nécessitant une activité effective 24 heures sur 24, contrairement à ceux de la seconde série correspondant, aux dires mêmes des intéressés, à une garde beaucoup plus « calme ».

On conçoit que, en matière de corticoïdes, le concept de « chiffres d'élimination normale » est assez difficile à définir, puisque dans les conditions normales mêmes, l'activité sécrétoire de la cortico-surrénale est susceptible de varier dans des proportions considérables. Les écarts constatés entre les diverses valeurs trouvées pour des sujets différents ou pour des dosages quotidiens effectués chez un même sujet, illustrent cette notion (d'où encore l'ampleur indéniable de nos écarts-types et de nos coefficients de variation).

Au cours de la journée, chacun est soumis à toute une série de stress variables d'un jour à l'autre et d'un sujet à l'autre, imprévisibles et d'intensité non mesurable. Il serait opportun d'éliminer l'intervention de ces stress extérieurs, pour étudier « l'activité de fond » de l'axe hypophyso-surrénalien, ou pour étudier l'action seule d'influences stres-

santes endogènes. Aussi, pensons-nous avec M. BETHOUX, que le dosage des corticoïdes devrait être effectué seulement sur les urines éliminées par le rein pendant la période de récupération physiologique. On apprécierait ainsi ce que M. BETHOUX suggère d'appeler les « *corticoïdes de base* » qui objectiveraient la sécrétion fondamentale du cortex, avec l'avantage de réduire, surtout chez un même sujet, les écarts d'élimination.

CHAPITRE VI

Corticoïdes et grossesse

De nombreux travaux ont déjà été effectués, pour rechercher une éventuelle modification de l'élimination journalière des corticoïdes, dans le courant de la gestation.

Nous rappellerons un certain nombre de travaux aujourd'hui classiques, dont nous empruntons l'inventaire à GOUTTARD.

— Travail de VENNING et coll. : ces auteurs utilisant un dosage biologique par le glycogène-test trouvent une moyenne de 100 unités glycogéniques au troisième mois, de 200 à 300 U.G. au huitième mois, alors que le taux normal chez la femme non enceinte est de 40 U.G. La courbe d'élimination des glycocorticoïdes semble s'infléchir au cours du deuxième trimestre (courbe à deux sommets, reproduite dans la Thèse de CHARVET).

— Travail de HEARD et SOBEL : au neuvième mois de la grossesse; élimination des P.R.L. correspondant pour deux cas à 2,48 mg./24 h. et 2,63 mg./24 h. ; moyenne chez la femme non enceinte normale fixée à 1 mg.

— Travail de DEVIS et DEVIS-VAN DEN EECKHOUDT (P.R.L. urinaires) : présentation en 1949 de deux cas :

au 2^e mois : 3 mg. et 3,3 mg./24 H.

au 8^e mois : 4,8 et 14,8 mg./24 H.

Présentation en 1950 de neuf cas normaux du 7^e au 9^e mois avec une élimination moyenne de 3,73 mg. par 24 heures (extrêmes 3,18 et 4,24).

— Travail de PARVAINEN (P.R.L. urinaires) : taux normal pour 12 heures (urines de la journée) : 1,22 mg. Chez la femme enceinte :

3 ^{me}	mois	lunaire	3 cas	1,61 mg pour 12 h.
4 ^{me}	—	—	4 cas	1,36 mg — —
5 ^{me}	—	—	4 cas	1,69 mg — —
6 ^{me}	—	—	4 cas	1,52 mg — —
7 ^{me}	—	—	4 cas	1,79 mg — —
8 ^{me}	—	—	4 cas	1,56 mg — —
9 ^{me}	—	—	4 cas	3,14 mg — —
10 ^{me}	—	—	4 cas	1,44 mg — —

— Travail de LEOPARDI et PROSDOMI : l'élimination est augmentée du double dans le troisième trimestre, avec maximum au neuvième mois.

— Travail de BALLAN : l'élimination croît légèrement pendant les trois premiers mois et plus nettement dès le sixième mois, pour atteindre un taux final de 3 à 5 mg./24 h. (P.R.L.).

— Travail de RIVOIRE : utilisant une technique d'hydrolyse chlorhydrique à chaud adaptée à la détermination des corticoïdes formaldéhydogéniques, cet auteur trouve une élimination en fin de grossesse de 5 à 6 mg./24 H., alors que la moyenne normale est fixée à 2,5 mg./24 H.

— Travail de COSTE, DELBARRE et LAURENT, utilisant une méthode biologique de dosage par l'effet éosinopénique des composés cortisone-like : ces auteurs prétendent également retrouver une élimination très accrue des corticoïdes urinaires.

— Travail de GOUTARD : très important travail effectué à la Clinique Obstétricale de Bordeaux, groupant 585 dosages appliquant la méthode de HEARD, SOBEL et VEXNING, parmi lesquels 194 concernent des grossesses normales (54 grossesses normales) ; en voici les résultats : moyennes par mois :

2 ^{me} mois	3 dosages,	moyenne :	2,10 mg par 24 heures
3 ^{me} —	10 —	—	3,04 mg —
4 ^{me} —	5 —	—	2,33 mg —
5 ^{me} —	7 —	—	2,60 mg —
6 ^{me} —	10 —	—	4,75 mg —
7 ^{me} —	5 —	—	4,44 mg —
8 ^{me} —	22 —	—	3,02 mg —
9 ^{me} —	119 —	—	3,74 mg —

moyennes par trimestre :

1 ^{er} trimestre (8 cas)	10 dosages	moy. 2,37 mg/24 h. (extrêmes 1,16-3,50)
2 ^{me} — (8 cas)	18 dosages	moy. 3,28 mg/24 h. (extrêmes 1,15-8,60)
3 ^{me} — (37 cas)	147 dosages	moy. 3,36 mg/24 h. (extrêmes 0,80-13,98)

La conclusion qui ressort de la confrontation de tous ces chiffres nous est donnée par GOUTARD : « le seul fait constant et indiscutable qui se dégage de ces observations est l'élimination considérablement accrue des stéroïdes d'origine corticale au cours de la gestation normale, élimination qui d'emblée atteint le double de celle de la femme non enceinte,

pour s'élever progressivement jusqu'à la fin de la grossesse ».

Nous discuterons ultérieurement ce qu'il faut penser de cet « accroissement » de l'élimination des corticoïdes au cours de la grossesse. Nous aimerions auparavant citer d'autres travaux relativement plus récents et appliquant des techniques perfectionnées par rapport à celles utilisées dans les travaux ci-dessus (techniques dont le type est celle de HEARD, SOBEL et VENNING).

CHART, SHIPLEY et GORDON ont étudié l'élimination urinaire journalière du « salt-retaining factor » en utilisant le test de KAGAWA (voir ci-dessus page 30) : les résultats de ces auteurs, exprimés en gammas de D.O.C.A. par 24 heures, font apparaître une augmentation de l'excrétion du sodium-factor dans le dernier trimestre de la grossesse, augmentation s'exagérant notablement en cas de toxémie gravidique. Ce phénomène semble confirmé par les travaux de BRUSH, DE COURCY et GRAY décelant dans l'extrait urinaire par chromatographie sur papier, à côté de la cortisone et de l'hydrocortisone, deux stéroïdes dont les valeurs de Rf correspondent à celles de deux stéroïdes similaires présents dans la fraction amorphe du cortex surrénal (donc vraisemblablement minéralo-cortico-stéroïdes, l'un des deux pouvant être l'aldostérone non encore connue au moment où les auteurs présentaient ce travail) : toujours est-il que ces stéroïdes inconnus étaient présents en plus grandes quantités dans l'urine de grossesse, que dans l'urine de femme non enceinte ou d'homme normaux.

CHART, SHIPLEY et GORDON effectuent en même temps que le test de KAGAWA, le dosage des 17-C.S. (lesquels ne changent pratiquement pas avec la grossesse) et le dosage des corticoïdes par la technique à l'acide périodique de DAUGHADAY : or, alors que le test de KAGAWA révèle une augmentation d'élimination journalière des minéralo-cortico-stéroïdes dans le troisième trimestre de la grossesse et surtout en cas de dysgravidie (grossesse normale au troisième trimestre : sodium-factor en équivalents de gammas de D.O.C.A. par 24 heures de 40 à 100 ; toxémie gravidique : chiffres s'élevant à 1000, avec chute caractéristique après césarienne), par contre le dosage des corticoïdes montre dans tous les cas une excrétion journalière strictement comparable à celle de la femme non enceinte ; ni la grossesse, ni même la toxémie gravidique ne paraissent influencer l'excrétion des corticoïdes dosables par la méthode de DAUGHADAY.

NORYMBERSKI, dosant les stéroïdes 17-célogéniques, ne constate pas d'augmentation de ces métabolites avec la grossesse. De même, KINSELLA et coll. ne constatent pas d'élimination accrue du glycuronide de tétrahydro-cortisone (dosée

spécifiquement après hydrolyse enzymatique et séparation chromatographique, par la réaction de PORTER et SILBER). Cette observation de KINSELLA concorde avec celles de DEVIS, dosant les 17-hydroxycorticostéroïdes urinaires par la réaction de PORTER et SILBER, après extraction butylique : 19 dosages chez des femmes normales donnent une élimination moyenne normale de 4,8 mg./24 h. (extrêmes 1,6-8,7) ; 19 dosages chez des grossesses normales de 6 à 8 mois 1/2 donnent une moyenne d'élimination de 5,6 mg./24 h. (extrêmes 2,6-10,1) : cette très faible augmentation n'est pas significative sur le plan clinique. De même, JAYLE ne constate pas, au cours de la grossesse, d'augmentation des métabolites dosables par la phénylhydrazine — après hydrolyse fermentaire par le suc d'escargot.

Ainsi, l'ensemble de ces données s'accorde sur l'invariabilité du taux d'élimination des 17-hydroxycorticoïdes urinaires dans le courant de la grossesse ; or cette notion est en contradiction formelle avec les conclusions de GEMZELL étudiant les 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins, qu'il dose par la technique de NELSON et SAMUELS chez des gestantes normales. Le taux normal des 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins est fixé d'après 21 dosages chez des jeunes femmes non enceintes, à $6,6 \pm 0,95$ gammas par 100 ml. de sang pour une première série de dosages et à $5,2 \pm 0,85$ gammas par 100 ml. de sang pour une deuxième série de dosages effectués six jours après chez les mêmes sujets ; les dosages effectués chez 124 femmes enceintes normales, à tous les âges de la gestation, donnent des résultats se répartissant en une large zone ; mais les valeurs moyennes pour chaque semaine de la gestation s'ordonnent suivant une droite régulièrement ascendante, dont l'auteur donne même l'équation correspondante :

$$y = 15,24 + 0,4843 (x - 21,17)$$

le début de la gestation coïncide avec le point le plus bas de la courbe, de l'ordre de 5 gammas par 100 ml. de sang, valeur représentant celle de la femme non enceinte ; la quarantième semaine coïncide avec le point le plus haut de la courbe et correspond à une valeur de l'ordre de 20 gammas par 100 ml. de sang, soit 4 fois la normale. 37 dosages effectués immédiatement après délivrance donnent la moyenne particulièrement élevée de $36,0 \pm 2,7$ gammas par 100 ml. ; 10 dosages effectués 6 jours après la délivrance donnent une moyenne de $1,99 \pm 0,51$ gammas par 100 ml. Dans ses conclusions, GEMZELL souligne l'accroissement considérable de la sécrétion des « chief compounds » dans le sang ; le maximum se situe à la fin de la grossesse avec

une pointe caractéristique immédiatement après la délivrance. Nous verrons dans la discussion finale l'interprétation physiologique que donne l'auteur de cet hypercorticisme gravidique.

DE COURCY, GRAY et coll. déterminant séparément par une méthode semi-quantitative les corticoïdes de l'extrait urinaire après chromatographie sur papier, constatent pendant la grossesse une élimination accrue de comp. E et de comp. F, ce qui s'accorde avec les conclusions de VENNING concernant l'augmentation de l'élimination du matériel protéino-glucidique dosé par le glycogène-test dans l'urine de grossesse ; cela s'accorde aussi avec les constatations de DEVIS qui dose les 17-hydroxycorticoïdes libres après extraction chloroformique à froid et à pH 1 : 15 dosages chez des femmes normales non enceintes (20 à 35 ans) donnent une moyenne de 0,123 mg./24 h. (extrêmes 0 à 0,4) — chiffres correspondant pratiquement à la somme du comp. E et du comp. F dans l'extrait urinaire, d'après DE COURCY et coll. ; 19 dosages des 17-hydroxycorticoïdes urinaires effectués sur des grossesses normales de 6 à 8 mois 1/2 donnent une moyenne de 0,47 mg./24 h. (extrêmes 0,2 à 1,0).

D'autre part, DE COURCY et coll. rapportent que les composés X4 et X6 (non réducteurs) seraient aussi augmentés ; rien dans ce travail ne concerne l'élimination de la tétrahydro-cortisone au cours de la grossesse.

La constance des 17-hydroxycorticoïdes urinaires totaux reconnue par DEVIS et JAYLE, entre autres, contraste avec la variabilité des résultats concernant les corticoïdes réducteurs.

KINSELLA et coll. dosant les corticoïdes par réduction du réactif phosphomolybdique, après hydrolyse bactérienne provoquée, rapportent les chiffres suivants, concernant la dernière semaine de la gestation :

41,1 mg./24 H.

26,0 mg. —

23,8 mg. —

(moyenne normale : 15,8).

JAYLE dose également les corticoïdes réducteurs par le réactif de FOLIN-WU après hydrolyse par le suc digestif d'escargot. Parallèlement il applique aux mêmes extraits la réaction de GORNALL-Mc DONALD (C.T.G.) à la 2,4-dinitrophénylhydrazine (seul exemple que nous ayons relevé dans la littérature, d'application de cette réaction).

Dosages des corticoïdes réducteurs (C.R.) et des corticoïdes totaux dosés par la méthode de GORSAL (C.T.G.) après hydrolyse par les enzymes du suc gastrique d'escargot. (Emprunté à JAYLE et coll.).

	Nombre de dosages	C.R.		C.T.G.	
		Moy.	Extrêmes	Moy.	Extrêmes
Femmes norm.	26	10,5	5,5-21	7	4 -11
Hommes normaux	12	16,3	8,7-25,9	12	8,2-21
Enf. : 8-12 ans	6	4	2,5-5	3,3	1,2-5,2
Gros. normales :					
(5-12 sem.)	3	9,4		7	
13-20 —	9	19	11 -39	11,5	8,6-14
21-29 —	99	18,5	15 -27,4	14	9,4-20
30-35 —	4	22,8		17,5	
36-terme	2	32		38	

DEVIS dose les corticoïdes réducteurs par la réaction de HEARD et SOBEL après extraction butylique et obtient les chiffres suivants :

	Nombre de dosages	Moyenne	Extrêmes
Femmes normales			
20 à 35 ans	9	5,5	2,8 à 10,5
Gros. normale de			
6 à 8,5 mois	6	10,6	3,4 à 25,3
(même âge)			

D'après ces données, on pourrait penser à une augmentation de l'élimination des corticoïdes réducteurs, en gros proportionnelle à l'âge de la grossesse. Le travail de JAYLE en particulier permet de s'apercevoir que l'excrétion des corticoïdes réducteurs, pratiquement inchangée au cours du premier trimestre, s'amplifierait à partir du deuxième trimestre pour devenir sensiblement augmentée en fin de gestation. Nous discuterons ci-dessous la valeur de ces données.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE LA CLINIQUE OBSTÉTRICALE

Sur les 625 dosages des corticoïdes réducteurs effectués au laboratoire de la Clinique Obstétricale, par la technique de BERNOTX, 547 dosages concernent l'état gravidopuerpéral.

— 243 dosages concernent des cas normaux avec 204 dosages pendant la grossesse et 39 dans les suites de couches.

— 304 concernent des cas pathologiques ou douteux avec 250 dosages pendant la grossesse et 54 dans les suites de couches. Nous ne ferons pas état en détail de ces résultats, dont l'étude et l'interprétation feront l'objet de travaux ultérieurs. Nous y ferons cependant allusion sommairement à la fin de l'ouvrage.

Nous n'exposons que les travaux concernant l'état gravidopuerpéral normal. Rappelons que les chiffres indiqués expriment en mg./24 H. les taux d'élimination urinaire des corticoïdes réducteurs, dosés par le réactif phosphomolybdique après hydrolyse chlorhydrique ménagée, suivant les indications de M. BERNOTX.

Nous rapportons tout d'abord les résultats de 46 dosages effectués sur des cas isolés correspondant aux premiers mois de grossesses considérées comme cliniquement et biologiquement normales (en particulier pour chaque cas a été pratiqué au moins un dosage du prégnandiol urinaire).

2 ^{me} mois	3 ^{me} mois	4 ^{me} mois	5 ^{me} mois	6 ^{me} mois	7 ^{me} mois
17,6	16,3	13,5	11,7	18,9	14,8
10,3	12,2	9,7	15,1	18,5	11,2
7,6	15	13,2	20,5	22,5	17,9
5,2	10,3	16,6	11,6	35,7	
11,4	10,5	11,2	11,7	16,7	
10,3	11,5	16,1	11,6		
10,8	14,5	12,0			
12,3	10,1	18,4			
7,7	12,1	10,4			
7,0	10,0	10,0			
		7,8			
		13,7			

Moyennes correspondantes :

2 ^{me} mois (n = 10)	$\bar{x} = 10,0 \pm 3,3$	mg/24 h.
3 ^{me} mois (n = 10)	$\bar{x} = 12,2 \pm 2,15$	—
4 ^{me} mois (n = 12)	$\bar{x} = 12,7 \pm 3,0$	—
5 ^{me} mois (n = 6)	$\bar{x} = 13,7 \pm 3,3$	—
6 ^{me} mois (n = 5)	$\bar{x} = 22,4 \pm 6,89$	—

(si l'on élimine pour ce 6^{me} mois le chiffre quelque peu aberrant de 35,7, on a :

$$(n = 1) \quad \overline{x} = 19,15 \pm 2,1 \quad \text{mg/24 h.}$$

$$7^{\text{me}} \text{ mois } (n = 3) \quad \overline{x} = 14,6 \pm 2,7 \quad \text{—}$$

Rappelons, à titre de comparaison, que chez la femme normale non enceinte nous avons trouvé :

— pour une première série de dosages (sujets différents)

$$(n = 10) \quad \overline{x} = 13,3 \pm 4,04$$

— pour une deuxième série de dosages, effectués chez le même sujet.

$$(n = 17) \quad \overline{x} = 13,22 \pm 5,18.$$

Nous rapportons maintenant ci-dessous les résultats des dosages effectués chez 10 sujets que nous avons pu suivre régulièrement au cours de leur grossesse (en particulier dans le dernier trimestre). Pour la plupart de ces sujets, les dosages ont pu être effectués également au cours des suites de couches immédiates.

Nous avons pratiqué simultanément, le plus souvent possible, le dosage des corticoïdes réducteurs, le dosage du prégnandiol et des glycuronides totaux (selon la technique de BETHOUX), et le dosage des œstrogènes.

Nous figurons dans les tableaux ci-après, pour chaque cas, le détail des résultats de tous ces dosages.

Nous indiquons, d'autre part, au bas des colonnes correspondantes, les moyennes d'élimination, groupées de mois en mois, des corticoïdes, prégnandiol et œstrogènes.

ABRÉVIATIONS :

C.R. : Corticoïdes réducteurs exprimés en mg./24 H.
— les chiffres réunis par une accolade correspondent aux dosages effectués en double à partir d'un même échantillon urinaire de 24 heures, pour contrôler la fidélité de la technique employée. On pourra noter au passage la bonne concordance de ces chiffres.

G.T. : Glycuronides totaux exprimés en mg./24 H.

P.G. : Prégndiol

O.D. : OEstrone — œstradiol expr. en gammas/24 H.

T : OEstriol

1. — Mme Ma... D.R. : 15/7/53 — Reg. Lab. n° III, p. 187 bis.
Suivie à partir du 6^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	6 ^{me} mois	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	17,5	19,7 15,4 16,0 17,0 13,2 13,8 14,0 22,4 23,4 24,0 24,0	{ 18,3 20,2 19,0 16,0 23,2	24,2 24,2
Moy.	17,5	18	20	24,2
G.T./P.G.	108/84	105,5/80 64/52 52/38 61/45 54/36 45/32	41/36 56/44 46,5/36,5 —	38/30 — —
Moy.	108/84	61/47	47,6/38,6	88/30
O.D./T.	1.200/6.000	2.000/7.400 3.300/6.000 1.000/4.600 1.660/6.600	970/11.800 670/9.700 850/11.200	
Moy.	1.200/6.000	1.990/6.150	830/10.900	

(Aucun dosage n'a été effectué dans les suites de couches).

2. — Mme Pa... D.R. : 4/10/52 — Reg. Lab. n° III, p. 196 bis.
Suivie à partir du 7^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	23,3 11,34 11,4 9,8 11,7 15,41 26,5 14,7 18,7	8,9 32,3 9 66 11,2 7,4 17,0 6,22 20,35 10,08 30,11	17,5 9,62
Moy.	16,5	15,3	13,56
G.T./P.G.	73,5/59 105 /72 64 /57,5 72 /60 90 /70,5	93 /80 89,5/61 100 /76 60 /36 90 /70 56 /48 84 /60	23/20
Moy.	80,8/63,8	68,9/61,5	23/20
O.D./T.	770/ 3.400 830/ 3.300 800/11.300	660/4.700 250/5.550 870/3.100 370/5.280 580/5.100 360/5.300 480/7.800	120/930
Moy.	800/ 6.000	524/5.261	120/930

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
1 ^{er} jour	17,5	23/20	120/930
3 ^{me} jour	16,0	5,5/4	55/210
6 ^{me} jour	11,62	1,5/1	20/102

3. — Mme Mi... D.R. : 20/10/52 — Reg. Lab. n° III, p. 197.
Suivie à partir du 6^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	6 ^{me} mois	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.		19,7	13,4 10,6	10,4 19,0 11,5 14,35
		21,3		
		23,0		
		22,7		
		17,9		
		23,0		
		17,8		
		12,8		
Moy.		19,4	12	13,56
G.T./P.G.	70/48	51,5/43	32/26	53 /35
		46 /30	60/48	61 /54
		46 /36		51 /30,5
		51 /40,5		42 /29
		57,5/38		
Moy.	70/48	50,4/37,5	46/37	51,7/37
O.D./T.		960/3.800	370/1.500	640/5.600
		1.100/3.660	1.000/4.400	360/6.800
		800/3.400		720/5.400
		700/4.400		560/1.700
Moy .		890/3.815	685/2.950	570/4.875

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
2 ^{me} jour	16,28	24/19	190/2.300
3 ^{me} jour	13,44	7/4	70/195
5 ^{me} jour	17,36	1,5/1	—

4. — Mme Ma... D.R. : 10/9/52 — Reg. Lab. n° III, p. 195.
Suivie à partir du 7^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	{ 15,45 15,45 18,02 18,72	11,32 { 15,0 17,5 20,3 14,6 16,5 17,8	13,21 10,8 4,5 7,5 10,6 17,3 16,6
Moy.	17,4	16,3	11,5
G.T./P.G.	46/32 51/37 44/36,5	100 /69 155 /108 76 /60 102,5/74 76 /52	67 /32 52 /36 70,5/51 59 /45 42 /30,5
Moy.	47/35	101,8/72,6	58 /42,8
O.D./T.	970/3.600 1.000/3.800 1.230/4.330	2.160/3.600 800/2.800	900/6.800 530/2.400 760/6.500 660/5.330 200/3.200
Moy.	1.066/3.910	1.450/3.200	618/4.846

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
1 ^{er} jour	10,2	32/24	93/220
3 ^{me} jour	12,5	3/2	107/190
6 ^{me} jour	16	2/1,5	—

5. — Mme Ga... D.R. : 25/6/52 — Reg. Lab. n° III, p. 188 bis.
Suivie à partir du 7^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	16,4 17,5 16	{ 16,6 16,2 { 22,4 15,6 16,0 { 21,9 22,8 { 26,65 26,65 { 31,2 31,6	{ 23,6 25,6 { 21,8 20,3 30,4 29,6
Moy.	16,6	22,5	24,9
G.T./P.G.	72 /42 70,5/48 66 /47	70,5/54,5 64,5/47,5 52 /32,5 62,5/51 84 /60	50 /36 64 /44 80 /61
Moy.	69,3/43	66,6/49	64,6/47
O.D./T.	1.400/4.400 3.000/6.860	2.660/5.800 950/5.400 1.400/6.400 1.800/6.500	900/12.000 1.850/24.500 2.000/15.700
Moy.	2.260/5.600	1.702/6.025	1.583/17.400

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
5 ^{me} jour	25,0	6/2	145/220

6. — Mme Ga... D.R. : 6/1/53 — Reg. Lab. n° III, p. 197.

Suivie à partir du 4^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	4 ^{me} mois	5 ^{me} mois	6 ^{me} mois	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	11,34					
	12,7		12,4		14,32	15,7
Moy.	12,02		12,4		14,32	15,7
G.T./P.G.	36/26	30/24	38/26			89/76,5
	21/13	30/25,5				56/48
Moy.	28,5/19,5	30/24,7	38/26			72,5/62
O.D./T.	450/1.080	400/2.000				640/6.750
	400/900	410/2.200				680/4.900
Moy.	425/990	405/2.100				660/5.825

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
2 ^{me} jour	16,6	8/7	113/157
3 ^{me} jour	34,1	—	—
4 ^{me} jour	25,0	3/1	87/110
6 ^{me} jour	8,38	1/0,5	70/155
7 ^{me} jour	20,83	—	—
8 ^{me} jour	8,38	—	—
9 ^{me} jour	16,5	1,5/1	66/110
10 ^{me} jour	33,18	—	—

7. — Mme Ag... D.R. : 15/7/52 — Reg. Lab. n° III, p. 188.

Suivie à partir du 6^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	6 ^{me} mois	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	8,1	7,0 12,5 14,7 16,4 10,0 11,8 20,1 19,7 16,6 15,0	 27,5 23,6 19,5 20,5 22,5 22,0 19,7 18,6	30,0
Moy.	8,1	13,9	21,6	30
G.T./P.G.	36/29	32/28,5 50/38 62/50 57/39 42/30,5 51/44,5	73,5/57,5 55 /41 53 /41,5 54 /40 — —	73,5/57,6 — — — — —
Moy.	36/29	49/38	58,7/45	73,5/57,5
O.D./T.	2.300/5.600	2.000/8.000 1.400/5.400 1.450/5.300 —	1.100/4.000 700/4.000 1.150/4.000 1.325/5.300	800/9.900 — — —
Moy.	2.300/5.600	1.016/6.233	1.868/4.325	800/9.900

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
3 ^{me} jour	34,8	3/1,5	155/275
5 ^{me} jour	13,36	—	210/190
7 ^{me} jour	13,65	—	—
8 ^{me} jour	18,58	—	—

8. — Mme Ch... D.R. : 30/7/52 — Reg. Lab. n° III, p. 185.
Suivie à partir du 6^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	6 ^{me} mois	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	11,0 8,1 8,1	13,4 13,2 15,4 15,8	21,0	16,28 19,0
Moy.	9,5	14,4	21	17,6
GT./P.G.	36/26 56/44	45/30,5 75/59	83/72	82 /72 73 /60
Moy.	46/35	60/44,5	83/72	77,5/66
O.D./T.	740/2.500 1.400/4.850	1.000/4.000 1.250/3.000	1.100/4.300 —	1.200/3.700 500/3.100
Moy.	1.070/3.675	1.125/3.500	1.100/4.300	850/3.750

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
3 ^{me} jour	18,4	10/6	140/170
5 ^{me} jour	24,4	1/0,5	110/170
7 ^{me} jour	10,6	—	—
9 ^{me} jour	17,2	1/1	117/155

9. — Mme Pa... D.R. : 24/12/52 — Reg. Lab. n° III, p. 207 bis.
Suivie à partir du 5^{me} mois.

Dosages pendant la grossesse :

	5 ^{me} mois	6 ^{me} mois	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	25		16,5	23,8	17,76
Moy.	25		16,5	23,8	17,76
G.T./P.G.	42/32		52/40		70,5/57,5
Moy.	42/32		52/40		70,5/57,5
O.D./T.	580/2.230			600/3.160	800/1.120
Moy.	580/2.230			600/3.160	800/1.120

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
1 ^{er} jour	18,75	32 /26	107/570
3 ^{me} jour	19,25	8 /6	80/125
4 ^{me} jour	36,0	8 /5	—
5 ^{me} jour	13,8	4,5/3	107/157

10. — Mme Ma... D.R. : 14/4/53 — Reg. Lab. n° IV, p. 2.
Suivie à partir du 2^{me} mois (aucun dosage aux 4^{me} et 5^{me} mois).

Dosages pendant la grossesse :

	2 ^{me} mois	3 ^{me} mois	6 ^{me} mois	7 ^{me} mois	8 ^{me} mois	9 ^{me} mois
C.R.	9,76	12,15	—	16,47	14,58 12,43	8,64
Moy.	9,76	12,15	—	16,47	13,5	8,64
G.T./P.G.	27/19	22/19	38/30	56/44	64/40 76/60	105/83
Moy.	27/19	22/19	38/30	56/44	70/50	105/83
O.D./T.	480/1.660	600/750	—	160/2.330	1.120/4.100 640/2.875	320/4.000
Moy.	480/1.660	600/750	—	160/2.330	880/3.487	320/4.000

Dosages dans les suites de couches :

	C.R.	G.T./P.G.	O.D./T.
2 ^{me} jour	11,0	20 / 15,5	110/1.000
3 ^{me} jour	12,0	6 / 4	85/520
5 ^{me} jour	9,68	0,5/ 0,3	93/130
6 ^{me} jour	8,77	0,3/ 0,2	60/85
8 ^{me} jour	8,10	1 / 0,8	40/55

Nous présentons enfin, à part, quatre grossesses normales pour lesquelles nous avons pratiqué uniquement des dosages de corticoïdes dans le courant du dernier trimestre.

Mme An... D.R. : 8/4/53 — Reg. Lab. n° IV, p. 260 bis.

Suivie au cours des 3 derniers mois (chiffres en mg/24 h.)

7^{me} mois — Nombre de dosages : 7, moy. 9,73 (extrêmes 5,3-16,84).

8^{me} mois — Nombre de dosages : 8, moy. 9,88 (extrêmes 8,11-13,29).

9^{me} mois — Nombre de dosages : 2, moy. 10,1 (extrêmes 9,81-10,4).

Mme Ed... D.R. : 1/7/53 — Reg. Lab. n° IV, p. 262.

Suivie dans les 2 derniers mois.

8^{me} mois — Nombre de dosages : 7, moy. 15,41 (extr. 12,87-19,97).

9^{me} mois — Nombre de dosages : 9, moy. 17,34 (extr. 12,12-20,9).

Mme Le... D.R. : 1/7/53 — Reg. Lab. n° IV, p. 262 bis.

Suivie dans les 2 derniers mois.

8^{me} mois — Nombre de dosages : 6, moy. 14,4 (extrêmes 6,42-19,72).

9^{me} mois — Nombre de dosages : 8, moy. 10,0 (extrêmes 7,9-11,9).

Mme Sy... D.R. : 22/2/53 — Reg. Lab. n° IV, p. 259 bis.

Suivie seulement au cours du 8^{me} mois.

8^{me} mois — Nombre de dosages : 12, moy. 18,4 (extr. 13,62-24,72).

MOYENNES D'ÉLIMINATION JOURNALIÈRE PENDANT LA GROSSESSE,
EN MG./24 H. DES CORTICOÏDES RÉDUCTEURS CORRESPON-
DANT À L'ENSEMBLE DES 14 CAS PRÉCÉDENTS.

Tableaux 1 à 10, et p. 121)

2^{me} mois ($n = 1$) $\bar{x} = 9,76$

3^{me} mois ($n = 1$) $\bar{x} = 12,15$

4^{me} mois ($n = 2$) $\bar{x} = 12,02$

5^{me} mois ($n = 1$) $\bar{x} = 25$

6^{me} mois ($n = 5$) $\bar{x} = 11,8 \pm 3,6$

7^{me} mois ($n = 45$) $\bar{x} = 15,9 \pm 2,55$

8^{me} mois ($n = 69$) $\bar{x} = 17,1 \pm 4,07$

9^{me} mois ($n = 40$) $\bar{x} = 17,2 \pm 6,28$

MOYENNES D'ÉLIMINATION JOURNALIÈRE PENDANT LA GROSSESSE
DES MÉTABOLITES DE LA PROGESTÉRONÉ (EN MG./24 H.) ET
DES ŒSTROGÈNES (EN GAMMAS PAR 24 H.) CORRESPONDANT
À L'ENSEMBLE DES CAS FIGURANT SUR LES TABLEAUX 1 À
10.

	G.T./P.G.		O.D./T.	
	<i>n</i>	$\overline{x}$	<i>n</i>	$\overline{x}$
2 ^{me} mois	1	27/19	1	480/1.660
3 ^{me} mois	1	22/19	1	600/750
4 ^{me} mois	2	28,5/19,5	2	425/990
5 ^{me} mois	3	36/28,3	3	492/2.165
6 ^{me} mois	7	56/42	4	1.523/5.091
7 ^{me} mois	32	58,4/43,6	23	1.093/4.633
8 ^{me} mois	29	67,8/53,2	25	1.030/5.056
9 ^{me} mois	21	54/52,3	21	702/6.646

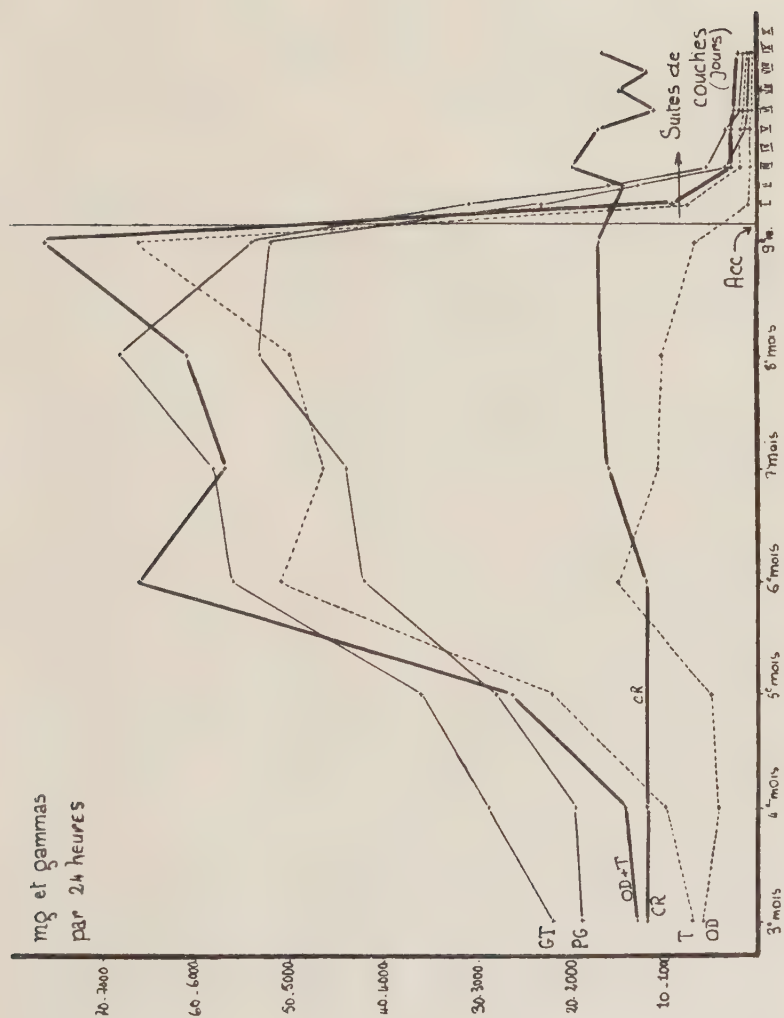
MOYENNES D'ÉLIMINATION JOURNALIÈRE, DANS LES SUITES DE COU-
CHES, DES CORTICOÏDES RÉDUCTEURS, DU PRÉGNANDIOL,
DES ŒSTROGÈNES, CORRESPONDANT À L'ENSEMBLE DES CAS
FIGURANT SUR LES TABLEAUX 1 À 10.

Corticoïdes réducteurs (mg/24 h.)

1 ^{er} jour	(<i>n</i> = 3)	$\overline{x}$ = 15,4	(extr. 10,2-18,7)
2 ^{me} jour	(<i>n</i> = 3)	$\overline{x}$ = 14,6	(extr. 11-16,6)
3 ^{me} jour	(<i>n</i> = 8)	$\overline{x}$ = 20,0	(extr. 12-34,8)
4 ^{me} jour	(<i>n</i> = 2)	$\overline{x}$ = 30,5	(extr. 25-36)
5 ^{me} jour	(<i>n</i> = 6)	$\overline{x}$ = 17,3	(extr. 13,36-25)
6 ^{me} jour	(<i>n</i> = 4)	$\overline{x}$ = 11,21	(extr. 8,48-16)
7 ^{me} jour	(<i>n</i> = 3)	$\overline{x}$ = 15,0	(extr. 10,6-20,83)
8 ^{me} jour	(<i>n</i> = 3)	$\overline{x}$ = 11,68	(extr. 8,10-18,58)
9 ^{me} jour	(<i>n</i> = 2)	$\overline{x}$ = 16,8	(extr. 16,5-17,2)

Prégnandiol et glucuronides totaux (mg/24 h.)

1 ^{er} jour	(<i>n</i> = 3)	$\overline{x}$ = 29,0/23,3	(extr. 23/20-32/26)
2 ^{me} jour	(<i>n</i> = 2)	$\overline{x}$ = 16/13	(extr. 8/7-24/19)
3 ^{me} jour	(<i>n</i> = 7)	$\overline{x}$ = 5,5/3,4	(extr. 3/1-10/6)
5 ^{me} jour	(<i>n</i> = 4)	$\overline{x}$ = 3,2/1,5	(extr. 1/0,5-6/2)
6 ^{me} jour	(<i>n</i> = 3)	$\overline{x}$ = 2,25/1,5	(extr. 1/0,5-2/1,5)
9 ^{me} jour	(<i>n</i> = 2)	$\overline{x}$ = 1,25/1	(extr. 1/1-1,5/1)



(Œstrogènes (gammas/24 h.)

1 ^{er} jour	(n = 2)	$\overline{x} = 113,5/750$	(extr. 107/570-120/930)
3 ^{me} jour	(n = 7)	$\overline{x} = 97/186$	(extr. 55/110-155/275)
5 ^{me} jour	(n = 5)	$\overline{x} = 118/168$	(extr. 20/102-210/220)
6 ^{me} jour	(n = 2)	$\overline{x} = 88/172$	(extr. 70/155-107/190)
9 ^{me} jour	(n = 2)	$\overline{x} = 91/137$	(extr. 66/110-117/165)

La confrontation de tous ces résultats que nous avons schématisés sous la forme d'un graphique où sont portées les courbes d'élimination des métabolites de la progestérone, des œstrogènes, et des corticoïdes en fonction de l'âge de la grossesse, et dans les suites de couches, nous amène à faire les constatations suivantes :

Le prégnandiol et les œstrogènes s'éliminent suivant une courbe caractéristique qui accuse une augmentation constante et considérable tout au long de la gestation, avec une chute immédiate après accouchement. Cette conclusion concorde avec les faits généralement admis.

En revanche, nous n'avons observé qu'une augmentation extrêmement discrète des corticoïdes réducteurs urinaires au cours de la gestation. Tout au plus avons-nous constaté une plus grande variabilité des résultats au cours des deux derniers mois, avec des chiffres extrêmes plus écartés, surtout pour le neuvième mois pour lequel la moyenne d'élimination de tous les cas étudiés est un peu supérieure à la moyenne normale de la femme non enceinte, l'écart type étant lui aussi plus ample (coefficient de variation : 35,2 %).

Le calcul statistique appliqué à la moyenne de nos éliminations quotidiennes groupées de mois en mois nous a montré que l'augmentation constatée était significative. Cependant, étant donné la variabilité même des chiffres normaux d'élimination constatée chez nos sujets témoins, objectivée par l'importance des écarts type et des coefficients de variation, l'augmentation d'élimination des corticoïdes urinaires que nous relevons en fin de grossesse ne laisse pratiquement aucune marge à l'interprétation clinique.

Si certains des faits étudiés font la preuve d'une élimination accrue des corticoïdes en fin de grossesse, ils ne forment pas la généralité : cet accroissement n'apparaît que comme une éventualité contingente. L'élimination des corticoïdes réducteurs peut rester dans des conditions normales invariable tout au long de la grossesse (ce qui serait inconcevable pour les métabolites des hormones génitales).

DISCUSSION

Il n'est pas aisé de se faire une idée correcte de l'activité cortico-surrénale pendant la grossesse ; il est encore plus difficile d'interpréter la signification d'une éventuelle intervention des hormones stéroïdes du type cortico-surrénal, dans le complexe endocrinien de la gestation. Soulignons d'emblée la différence du point de vue physiologique, existant entre hormones cortico-surrénales et hormones génitales : celles-ci étroitement spécialisées, subissent des modifications quantitatives caractéristiques et constantes au cours de la gestation, modifications ayant un caractère de nécessité et formant le fond même du climat endocrinien de l'équilibre gravidique physiologique.

Les hormones corticosurrénales, elles, sont des hormones tissulaires, à manifestations multiples et ubiquitaires, « s'insérant dans tous les mécanismes fondamentaux ». Pour la corticosurrénale, la grossesse semble n'être qu'une éventualité parmi beaucoup d'autres.

Nous avons vu que les premiers travaux effectués (ceux que nous avons puisés dans la Thèse de GOUTARD) prétendaient établir un hyper-fonctionnement surrénalien à caractère constant et nécessaire pendant la grossesse. GOUTARD prétend même que, dès le premier trimestre, dès le tout début de la grossesse, l'élimination des corticoïdes est pratiquement doublée par rapport à la normale ce qui l'incite à penser que le dosage des corticoïdes pourrait amener un certain degré de présomption pour un diagnostic biologique de la grossesse hésitant. « Un faisceau de dosages peut arriver à faire pencher la balance du diagnostic et nous pouvons penser qu'un chiffre nettement supérieur à la normale des P.R.L. peut être considéré comme un bon facteur de présomption ».

Nous opposerons à cette vue un simple argument technique ; considérons les moyennes rapportées de mois en mois par GOUTARD et plus encore les chiffres extrêmes correspondants. Cet auteur conclut à une augmentation de ses corticoïdes, car il les compare à un taux normal chez la femme non enceinte, de l'ordre de 1 mg./24 H. (HEARD, SOBEL, DEVIS). Or ce chiffre est manifestement trop bas. DEVIS étudie les corticoïdes réducteurs libres trouve dans un premier travail une moyenne de 1,4 mg./24 H., mais au cours d'un autre travail 2,38 mg./24 H. (extrêmes 0,9 à 4,7 pour 33 dosages), comme taux d'élimination normale chez la femme non enceinte ; M. BETHOUX qui a une grande expérience de la

technique de HEARD, SOBEL et VENNING, qu'il a standardisée dans son laboratoire, considère comme normaux des chiffres s'élevant à 4 mg./24 H. Ainsi l'on voit que la gamme de moyennes rapportée par GOUTARD, pour la grossesse, s'inscrit dans l'ordre de grandeur des chiffres normaux. Nous reconnaissons que les extrêmes évoluent sur une large zone, les extrêmes supérieurs dépassant même parfois considérablement l'ordre de grandeur normal ; cependant, on aimerait connaître en pareil cas la valeur de l'écart-type qui rendrait mieux compte de la dispersion des résultats, due à l'échantillonnage. Ainsi par exemple, pour le deuxième mois, le quatrième et le cinquième (voir tableaux donnés par GOUTARD) les séries de résultats sont homogènes (extrêmes resserrés dans la zone des chiffres normaux), alors qu'au troisième mois, on a un résultat isolé et insolite à 9,50 qui arrive à point nommé pour rehausser une moyenne qui porte sur 10 cas.

Ce même argument vaut pour la plupart des travaux rapportés par cet auteur. En particulier, la gamme des moyennes d'élimination pour 12 heures groupées du troisième mois lunaire au dixième par PARVIANEN ne nous paraît nullement concluante quant à une augmentation des P.R.L. urinaires dans la grossesse.

Actuellement avec le perfectionnement et la multiplication des techniques d'extraction et de dosage, on n'arrive pas à se faire une idée unique et définitive des rapports entre élimination des corticoïdes et gestation.

Certaines techniques font conclure à une élimination stable et invariable des corticoïdes, indépendante de la grossesse : CHART, SHIPLEY et GORDON ne constatent qu'un taux normal de corticoïdes formaldéhydrogéniques au cours de la grossesse normale ou de dysgravidies. NORIMBERSKI ne relève pas de modifications des corticoïdes 17-cétogéniques ; KINSELLA et coll. ne relèvent pas de modifications de la tétrahydro-cortisone au cours de la grossesse. De même JAYLE n'extraît toujours que la même quantité de 17-hydroxycorticoïdes totaux Porter-Silber positifs après hydrolyse enzymatique, DEVIS n'extraît toujours que la même quantité de 17-hydroxycorticoïdes totaux butylo-solubles à tous les âges de la grossesse. Ces données contredisent formellement les conclusions de GEMZELL dosant les 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins par la technique de NELSON et SAMUELS. Cet auteur, rappelons-le, constate une augmentation continue et importante des 17-OH-corticostéroïdes sanguins au fur et à mesure que progresse la gestation, le taux final étant 4 fois plus élevé que le taux initial : cet auteur conclut à un hypercorticisme gravidique qu'il interprète en comparant le taux des 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins de la grossesse à l'élévation de ces métabolites dans le sang de sujets soumis

à des stress chirurgicaux ou des chocs traumatiques. On retrouve ici l'interprétation désormais classique qui consiste à intégrer la grossesse dans le cadre du syndrome général d'adaptation : la grossesse (et la délivrance, voir ci-dessus détails des travaux de GEMZELL) peuvent être considérées comme une forme de stress cause d'une stimulation du cortex surrénal ; cette notion qu'ont fait apparaître en particulier PARVIINEN et coll. s'est généralisée à la suite des premiers travaux qui concluaient, comme nous l'avons vu, à une augmentation considérable des corticoïdes urinaires signant une hyperactivité corticosurrénale pendant la grossesse. Elle devait avoir un grand succès auprès de certains chercheurs qui se sont demandés si les manifestations si disparates des dysgravidies ne pouvaient être considérées comme des « syndromes de maladaptation aux stress de la grossesse ».

Notons d'autre part, que GEMZELL développe une idée que nous n'avons vue nulle part ailleurs ; des expériences chez l'animal ont montré que l'administration d'œstrogènes a un effet stimulant sur la surrénale relayée par l'hypophyse et la corticotrophine hypophysaire. Or la production et l'excrétion des œstrogènes s'accroissent pendant la grossesse. Cette production augmentée d'œstrogènes pourrait induire des modifications des 17-hydroxycorticostéroïdes dans le sang. GEMZELL ne croit pas qu'il faille incriminer l'action de la surrénale forte dans cette augmentation des 17-hydroxycorticostéroïdes sanguins.

La constance des 17-hydroxycorticostéroïdes urinaires totaux contredit également ce que l'on sait des variations des 17-hydroxycorticostéroïdes urinaires libres — pratiquement comp. E et F — pendant la grossesse ; VENNING, par sa méthode biologique, DE COURCY, par micro-détermination après chromatographie sur papier, DEVIS par la réaction à la phénylhydrazine après extraction chloroformique, s'accordent pour reconnaître une augmentation de ces composés dans l'urine gravidique.

En ce qui concerne les corticoïdes réducteurs totaux dosés après hydrolyse acide ou enzymatique, ou après extraction butylique, nous ne sommes pas convaincus de l'augmentation de leur élimination au cours de la gestation. Nos propres résultats font apparaître en moyenne une élimination pratiquement inchangée ; les résultats rapportés par JAYLE (voir page 107) ne nous paraissent pas témoigner d'une augmentation sûre et nette des C.R. : là encore il ne faut pas se laisser tromper par les moyennes, et il convient d'examiner de près les chiffres extrêmes et les nombres de cas. La moyenne de références de JAYLE à la femme normale nous paraît faible et l'échantillonnage de ces cas de grossesse capricieuse. De toutes façons, en regardant la valeur des chiffres extrêmes, alors même que des cas accuseraient

une augmentation nette des corticoïdes réducteurs avec la grossesse, d'autres verraient une élimination parfaitement indépendante et invariable de ces composés : l'augmentation des C.R. nous apparaît donc comme un phénomène contingent, demandant la plus grande prudence quant à l'interprétation clinique. De même, concluons-nous ainsi devant les résultats de DEVIS dosant les corticoïdes réducteurs après extraction au butanol.

L'augmentation des C.T.G. de JAYLE (p. 126) serait bien plus significative que celle des C.R. Nous sommes cependant réservés vis-à-vis de ces résultats dont nous attendons confirmation ; il n'est pas certain qu'il n'y ait pas ici interférence de certains métabolites stéroïdiques (métabolites de la progestérone en particulier, qui eux sont en progression constante) ou non stéroïdiques, avec la 2-4-dinitro-phényl-hydrazine.

Devant la divergence de tous les résultats qui ne semblent différer souvent que suivant la technique utilisée, on se trouve fort embarrassé pour interpréter le sens d'une éventuelle intervention de la corticosurrénale au cours de la grossesse. Pour les dysgravidies on note les mêmes confusions : si TOBIAN et DEVIS avaient parlé d'élimination très augmentée des corticoïdes urinaires, cette augmentation étant pratiquement fonction de la gravité des symptômes d'autres n'ont rien remarqué qui soit apparemment anormal. GOUTARD a constaté des chiffres du même ordre dans la grossesse normale et la toxémie gravidique. Les nombreux dosages effectués au laboratoire de la Clinique Obstétricale au cours de dysgravidies, nous amènent à conclure que rien en ce qui concerne les corticoïdes urinaires, ne nous permet de différencier une grossesse normale d'une grossesse pathologique. Notons que FAUVET aurait même constaté une hypotrophie des surrénales dans l'éclampsie ; MOORE et ses collaborateurs partant de cette observation n'ont pas hésité à traiter par la cortisone des cas de toxémie grave.

CHART, SHIPLEY, GORDON ont montré le contraste qui existe entre le taux constant d'élimination des corticoïdes formaldéhydogéniques et le taux d'élimination très exagéré du sodium-factor dans l'urine pendant les dysgravidies. Il est frappant de constater que les deux techniques de dosages biologiques des corticoïdes font état d'une augmentation de ceux-ci pendant la grossesse : glycocorticoïdes (VENNING) ; minéralo-corticoïdes (CHART et coll.).

Un chiffre élevé de corticoïdes urinaires — dosés par n'importe quelle technique — autorise-t-il à parler d'hyperfonctionnement surrénalien vrai ? On a comparé (VENNING, JAYLE) « l'hyperfonctionnement surrénalien de la grossesse » supposé d'après les résultats des dosages, à celui de la maladie de CUSHING. Assimiler la grossesse à un « Cushing com-

pensé » permet d'interpréter avec une certaine facilité certains symptômes cliniques vus pendant la grossesse (vergetures, perturbations du métabolisme du calcium et parfois signes rénaux et vasculaires), mais va à l'encontre de certains faits. En particulier un hyperfonctionnement surrénalien ne va pas sans une certaine augmentation de l'élimination des 17-C.S. urinaires. Le syndrome de Cushing s'accompagne d'ailleurs classiquement d'une élévation des 17-C.S. urinaires ; or la grossesse, dans la règle, ne connaît pas cette élévation des 17-C.S. et nous avons vu (p. 59) que les 17-C.S. reflètent en partie l'activité glyco-régulatrice de la surrénale et non seulement l'activité androgénique ; il doit y avoir des variations dépendantes du taux des 17-C.S. et du taux des corticoïdes urinaires, au moins dans certains cas ; une hyperactivité de la surrénale doit pouvoir s'objectiver biologiquement autant par une augmentation des corticoïdes urinaires que par une augmentation de la fraction la plus polaire des 17-C.S. (sommets VI et VII du chromatogramme de DINGEMANSE).

Certains reconnaissant l'existence d'une excrétion des corticoïdes nettement augmentée dans la toxémie gravidique, attribuent à ces substances une origine extra-surrénale. C'est le tissu placentaire qui serait pour MASTBOOM le centre de synthèse exagérée des corticostéroïdes type sodium-retenant (ce qui concorde avec les données de CHART et coll.), à la suite d'une viciation du métabolisme de ce tissu par insuffisance absolue ou relative d'apport sanguin : Mc. GAUGHIEY a étudié les conditions circulatoires d'un utérus gréviste et analysé différents facteurs vasculaires faisant partie du tableau des dysgravidies ; pour cet auteur le tableau sanguin et vasculaire dans la pré-éclampsie-éclampsie dépend de l'importance du blocage que forme la masse résistante de l'ensemble des villosités choriales, au courant sanguin utéro-placentaire, à travers la « fistule artério-veineuse modifiée » existant au niveau de l'insertion placentaire. Pour MASTBOOM, le placenta ainsi perturbé dans ses fonctions n'est plus capable de transformer de manière adéquate les minéralo-corticostéroïdes (21-hydroxy-) qu'il a produit, en lutéoïdes (20-méthyl-). Cet auteur imagine donc l'interruption pathologique d'une chaîne métabolique conduisant normalement à la formation de composés 20-méthyl du type de la progestérone, par l'intermédiaire de composés 20-céto-21-hydroxy à activité minéralocorticoïde. En même temps la glande surrénale ne parvient à inactiver que partiellement les minéralocorticostéroïdes par 11-hydroxylation en glycocorticostéroïdes : ce dernier point de la théorie est, selon nous, à corriger, étant donné ce que l'on sait actuellement de la 11-hydroxylation des corticostéroïdes (pages 25 et 44).

L'hypothèse de MASTBOOM repose sur une comparaison de la toxémie gravidique avec l'intoxication expérimentale par la D.O.C.A. (rétention d'eau, de sodium, augmentation du volume du liquide extra-cellulaire, diminution du taux de potassium intra-cellulaire et élévation du taux de sodium intra-cellulaire). En fait, le tableau de la toxémie se complique par intervention de l'hormone anti-diurétique-hypophysaire. On voit que la théorie de MASTBOOM semble faire table rase du concept du syndrome général d'adaptation ; en effet la surproduction de minéralocorticostéroïdes ne provient pas d'une intervention de l'axe hypophyso-surrénal ; d'après l'auteur le taux sanguin de l'hormone corticotrope-hypophysaire n'est pas régulièrement élevé chez les malades avec toxémie.

En somme, pour conclure, le rôle de la corticosurrénale pendant la grossesse normale ou pathologique ne nous paraît pas nettement établi. Aucun loi quantitative, précise et fixe, ne régit les normes d'excrétion des métabolites urinaires de provenance surrénale pendant la gestation. Ainsi l'hyperfonctionnement corticosurrénalien que l'on a cru pouvoir supposer à la suite de certains travaux, reste à prouver. Tout au plus, nous croyons pouvoir imaginer un certain état de réactivité accrue de la surrénale, se manifestant occasionnellement, vis-à-vis de tout stress extérieur ou d'origine interne, en fin de grossesse. Ainsi pourrait-on interpréter la plus grande variabilité des résultats des dosages, pour certains cas et pour certaines techniques en fin de grossesse, extériorisant une plus grande amplitude et une plus grande fréquence des accidents particuliers de chaque courbe d'élimination individuelle. Il n'est pas jusqu'à l'augmentation des corticoïdes urinaires constatée par certains qui ne prête à discussion sur le plan biochimique. On ne peut inférer directement de l'activité corticosurrénale sur un simple dosage des corticoïdes urinaires (par n'importe quelle technique). Trop de facteurs inconnus interviennent entre l'étape primaire surrénale et l'étape finale urinaire — facteurs intéressant le catabolisme des corticostéroïdes — et font varier les résultats dans l'un ou l'autre sens (voir travaux de HABEEB BACCHUS et de KAYAHAN sur le rôle de la vitamine C sur la dégradation des corticostéroïdes). La grossesse peut introduire des conditions métaboliques spéciales dont nous n'avons pas idée, venant modifier les conditions de transformations intermédiaires des stéroïdes indépendamment de l'activité de la glande surrénale. D'autre part, l'anabolisme même de stéroïdes du type corticosurrénal pourrait relever de processus extra-surrénaux.

CONCLUSIONS

I. — A la Clinique Obstétricale est annexé un Laboratoire d'Endocrinologie où sont actuellement effectués les dosages de prégnandiol, d'œstrogènes et de corticoïdes.

II. — Nous nous sommes intéressés tout particulièrement au dosage des corticoïdes urinaires et avons personnellement effectué 625 dosages.

III. — La technique de dosage utilisée détermine les corticoïdes réducteurs au moyen du réactif phosphomolybdique de FOLIN-WU, déjà préconisé par HEARD et SOBEL. Mais l'extraction chloroformique initiale est combinée avec une hydrolyse chlorhydrique ménagée à la température d'ébullition du chloroforme, ce qui permet d'accroître considérablement le rendement en corticoïdes réducteurs.

IV. — Nous avons procédé à une comparaison systématique avec l'hydrolyse enzymatique produite par le suc digestif d'*Helix Pomatia*. La bonne concordance des résultats obtenus nous a démontré la valeur de ce mode d'hydrolyse acide pour le dosage des corticoïdes urinaires.

V. — Après injection d'A.C.T.H. à des sujets normaux, nous avons constaté une augmentation significative et caractéristique dans l'élimination des corticoïdes réducteurs. La technique utilisée à la Clinique Obstétricale peut donc être considérée comme une méthode d'exploration fonctionnelle valable de la corticosurrénale.

VI. — Parmi les 625 dosages que nous avons effectués, 243 concernent des grossesses cliniquement et biologiquement normales ; 304 des grossesses cliniquement et biologiquement anormales.

VII. — Nous ne donnons qu'une interprétation sommaire quant aux résultats des dosages dans les grossesses

pathologiques, cette interprétation devant faire l'objet de travaux ultérieurs.

VIII. — Parmi les grossesses normales que nous avons étudiées, dix ont pu être suivies pendant les derniers mois de la grossesse et dans les suites de couches. Parallèlement ont été effectués les dosages du prégnañdiol et des œstrogènes urinaires.

Alors que le prégnañdiol et les œstrogènes s'éliminent suivant une courbe caractéristique qui accuse une augmentation constante et considérable tout au long de la gestation, avec une chute immédiate après l'accouchement, nous n'avons observé qu'une augmentation discrète des corticoïdes urinaires réducteurs au cours de la gestation.

Le calcul statistique, appliqué à la moyenne des éliminations quotidiennes groupées de mois en mois nous a montré que l'augmentation constatée était significative. Néanmoins, étant donnée la valeur de l'écart type de nos chiffres normaux, cette augmentation progressive constatée pendant la gestation laisse peu de marge à l'interprétation clinique.

IX. — Nous nous sommes attachés, par ailleurs, à étudier les variations, chez une même malade, des éliminations quotidiennes d'une part, des éliminations diurnes et nocturnes d'autre part.

Le Doyen,
H. HERMANN

Le Président de la Thèse,
PIGEAUD

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 16 Juin 1954.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

1. ASSALI (N. S.), CLARK (L. C.), SOBEL (E. H.). — Studies on toxemia of pregnancy: effect of DCA on hemodynamics and electrolyte balance of normal pregnant women. *J. of Clin. Endocr. and Metab.*, **13**, 1030, 1953.
2. BACCHUS HABEEB. — Relation of ascorbic acid untriting to the invitis metabolism of cortisone by surviving liver tissue. *Endocrinology*, **53**, 441, 1953.
3. BACCHUS HABEEB. — Factors affecting the in vitro metabolism of adrenal steroids by liver tissue. *Endocrinology*, **53**, 617, 1953.
4. BAGGET (B.), KINSELLA (R. A.), DOISY (E. A.). — Hydrolysis of conjugates of urinary corticoids with glucuronidase. *J. Biol. Chem.*, **203**, 1013, 1953.
5. BAYLISS (R. I. S.). — Some observations on the hydrolysis and extraction of formaldehydogenic corticosteroids. *Biochem. J.*, **52**, 63, 1952.
6. BAYLISS (R. I. S.), STEINBECK (A. W.). — A modified method of estimating 17-hydroxycorticoids en plasma. *Biochem. J.*, **54**, 523, 1953.
7. BLISS (E. L.), NELSON (D. H.), SAMUELS (L. T.). — Effects of intravenous A.C.T.H. in blood levels of 17-hydroxycorticosteroids and circulating leukocytes. *J. of Clin. Endocr. and Metab.*, **14**, 423, 1954.
8. BONGIOVANNI (A. M.). — Detection of corticoids conjugates in human blood. *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **14**, 341, 1954.
9. BURSTEIN (S.), SAVARD (K.), DORFMAN (A. I.). — The in vivo metabolism of cortisone. *Endocrinology*, **52**, 448, 1953.
10. BURSTEIN (S.), SAVARD (K.), DORFMAN (A. I.). — The in vivo metabolism of hydrocortisone. *Endocrinology*, **53**, 88, 1953.
11. BURSTEIN (S.), SAVARD (K.), DORFMAN (A. I.). — The in vivo metabolism of 21-desoxycortisone. *Endocrinology*, **53**, 267, 1953.
12. BURTON (R. B.), KEUTMANN (E. H.), WATERHOUSE (C.). — The conversion of cortisone acetate to other ketolic steroids. *J. of Clin. Endocr. and Metab.*, **13**, 48, 1953.
13. BURTON (R. B.), ZAFFARONI (A.), KEUTMANN (E. H.). — Corticosteroids in urine of normal persons determined by paper chromatography. *J. Biol. Chem.*, **193**, 769, 1951.
14. BUSH (I. E.). — Adrenocortical secretion and its relation to the pituitary gland. *J. Endocrinology*, **7**, LXXXII, 1951.
15. BUSH (I. E.). — Species differences in adrenocortical secretion. *J. Endocrinology*, **9**, 95, 1953.

16. BUSH (I. I.), DE COURCY (C.), GRAY (C. H.). — Adrenal cortical steroids in urine. *J. Endocrinology*, **8**, XII, 1952.
17. CHART (J. J.), SHIPLEY (E. G.), GORDON (E. C.). — Evidence for a sodium retaining factor in toxemia of pregnancy. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **78**, 244, 1951.
18. CHEN (C.), FEWELL (H. E.). — Corticosteroids determination with blue tetrazolium. *Fed. Proceed.*, **10**, 377, 1951.
19. COHEN (S. L.). — A comparison of hydrolytic procedures for conjugated urinary corticoids. *Fed. Proceed.*, **10**, 173, 1951.
20. CORCORAN (A. C.), PAGE (I. H.). — Methods for the chemical determination of corticosteroids in urine and plasma. *J. Lab. Clin. Med.*, **33**, 1326, 1948.
21. CORCORAN (A. C.), PAGE (I. H.), DUSTAN (H. P.). — Urinary formaldehydogenic steroids, normal values and observations in hypertension. *J. Lab. Clin. Med.*, **36**, 397, 1950.
22. COSTE (F.), DELBARRE (F.), LAURENT (F.). — Une nouvelle méthode de dosage biologique des 11-oxystéroïdes urinaires. *Presse Médicale*, **60**, 509, 1952.
23. COSTE (F.), DELBARRE (F.). — Méthode de dosage clinique de la cortisone et de ses analogues dans l'urine. *Presse Médicale*, **61**, 46, 1953.
24. COX (R. I.). — A method for the quantitative determination in urinary of C_{21} 17,20-dihydroxy-20-methyl-steroids. *Biochem. J.*, **52**, 339, 1952.
25. COX (R. I.), MARRIAN (L. F.). — The hydrolysis of the chloroform insoluble conjugated adrenocortical steroid in human urine. *Biochem. J.*, **48**, XXXIII, 1951.
26. DAUGHADAY (W. H.), JAFFE (H.), WILLIAMS (R. H.). — Chemical assay for « cortin » determination of formaldehyde liberated on oxydation with 104 H. *J. of Clin. Endocr.*, **8**, 166, 1948.
27. DAUGHADAY (W. H.), JAFFE (H.), WILLIAMS (R. H.). — Adrenocortical hormone excretion in endocrine and non endocrine disease as measure by chemical assay. *J. of Clin. Endocr.*, **8**, 244, 1948.
28. DE COURCY (C.), BUSH (I. E.), GRAY (C. H.), LUNNON (B. J.). — A chromatographic investigation of $\Delta 4$ -3 ketosteroids and ketolic steroids in human urine. *J. of Endocrinology*, **9**, 401, 1953.
29. DEHING (Q. B.), LUETSCHER (J. A.). — Bioassay of desoxycortisone-like. Material in urine. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **73**, 171, 1950.
30. DESAULLES (P.), TRIPOD (J.), SCHULER (W.). — Wirkung von elektro cortin auf die electrolyt und wasserausscheidung im vergleich zu desoxycortexon. *J. Suisse de Méd.*, **83**, 1088, 1953.
31. DEVIS (R.), DEVIS VAN DEN ECKOUDT (M.). — Sur la pathogénie de l'éclampsie : l'excrétion urinaire des « corticostéroïdes » au cours de la prééclampsie et de l'éclampsie. *Ann. Endocr.*, **11**, 22, 1950.
32. DEVIS (R.), LEMMENS (P.). — Sur les stéroïdes urinaires au cours des rhumatismes articulaires. I. Les « corticostéroïdes » urinaires chez le sujet normal et au cours des rhumatismes articulaires. *Ann. Endocr.*, **11**, 389, 1950.

33. DEVIS (R.). — Méthodes cliniques et applications cliniques du fractionnement chromatographique des stéroïdes urinaires. *Ann. Endocr.*, **12**, 451, 1951.
34. DEVIS (R.). — Elimination des corticoïdes au cours de la grossesse. *Gyn. Obs.*, **53**, 57, 1954 (Colloques sur la fonction lutéale).
35. DEVIS (R.), VANEK (R.). — Le dosage des 17-hydroxycorticoïdes urinaires. *Ann. Endocr.*, **15**, 196, 1954.
36. DEVIS (R.), VANEK (R.). — A propos de l'hydrolyse et de l'extraction des corticoïdes urinaires. *Ann. Endocr.*, **15**, 201, 1954.
37. DOBRINER (K.). — Ciba foundation, colloquia on Endocrinology. London, vol. II, p. 135, 1952.
38. DOBRINER (K.), LIEBERMANN (S.), RHOADS (C. P.). — Studies in steroids metabolism. I. Methods for the isolation and quantitative estimation of neutral steroids present in human urine. *J. Biol. Chem.*, **172**, 241, 1948.
39. DOBRINER (K.), LIEBERMANN (S.), RHOADS (C. P.), JONES (R. N.), WILLIAMS (H. C.), BARNES (R. B.). — Studies in steroid metabolism. III. The applications of infra-red spectrometry to the fractionation of urinary ketosteroids. *J. Biol. Chem.*, **172**, 297, 1948.
40. DOUGHERTY-SCHNEEBEL. — Relation of structure of adrenocortical steroids to antiphlogistic activity. *Fed. Proceed.*, **12**, 35, 1953.
41. EIK-NES (K.), SCHELLMANN (J. A.), LUMRY (R.), SAMUELS (L. T.). — The binding of steroids to proteins. I. Solubility determinations. *J. Biol. Chem.*, **206**, 411, 1954.
42. FARELL (G. L.). — Stéroïdes in adrenal venous blood in dog. *Fed. Proceed.*, **12**, 41, 1953.
43. MC GAUGHEY (A.). — The cause of the blood and vascular alterations of normal pregnancy and preeclampsia-eclampsia. *A Journ. of Obst. and Gyn.*, **64**, 1268, 1952.
44. GENZELL (C. A.). — Blood levels of 17-hydroxycorticosteroids in normal pregnancy. *J. of Clin. Endocr. and Metab.*, **13**, 898, 1953.
45. GLENN (E. M.), NELSON (D. H.). — Chemical method for 17-corticosteroids and 17-ketosteroids in urine, following hydrolysis with -glycuronidase. *J. of Clin. Endocrinology and Metab.*, **13**, 911, 1953.
46. GOUTARD. — Thèse Bordeaux, 1953.
47. GRAY (C. H.). — Méthode de détermination semi-quantitative des stéroïdes corticosurrénaux par chromatographie sur papier. *Ann. Endocr.*, **14**, 865, 1953.
48. GRAY (C. H.). — Etude de l'excrétion des stéroïdes corticosurrénaux et de leurs métabolites à l'état pathologique. *Ann. Endocr.*, **14**, 869, 1953.
49. GORNALL (A.), MACDONALD (M. P.). — Quantitative determination of the steroids hormones, using the 2-4-dinitrophenylhydrazine. *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **12**, 978, 1952.
50. GORNALL (A.), MACDONALD (M. P.). — Quantitative determination of the steroid hormones with 2,4-dinitrophenylhydrazine. *J. Biol. Chem.*, **201**, 279, 1953.

51. GRECO (F. D.), MASON (G. M. C.), CORCORAN (A. C.). — Effects of corticosteroids on urinary formaldehydogenic corticosteroids and 17-ketosteroids in normal and subtotally hepatectomized rats. *Endocrinology*, **52**, 474, 1953.
52. GRUNDY (A. M.), SIMPSON (S. A.), TAIT (J. F.). — Isolation of a highly active mineralocorticoid from beef adrenal extract. *Nature*, **169**, 795, 1952.
53. GUILLEMIN (J.). — Une nouvelle hormone corticosurrénale : l'aldostérone. *Sem. Hôp. Paris*, 6 mai 1954, p. 1903.
54. HEARD (R. D. H.). — Chemistry and metabolism of the adrenal cortical hormones. *The hormones. Academic press.* New-York, vol. I, 549, 1948.
55. HEARD (R. D. H.), SOBEL (H.). — A colorimetric method for the estimation of reducing steroids. *J. Biol. Chem.*, **165**, 687, 1946.
56. HEARD (R. D. H.), SOBEL (H.), VENNING (E. H.). — The neutral lipids-soluble reducing substance of wim as an index of adrenal cortical puncture. *J. Biol. Chem.*, **165**, 699, 1946.
57. HECHTER (O.), SALOMON, CASPI. — Corticosteroids metabolism in vivo studies on perfused rat livers. *Endocrinology*, **53**, 345, 1951.
58. HECHTER (O.), ZAFFARONI (A.), JACOBSEN (R. A.), LEVY (H.), JEANLOZ (R.), SCHENKER (V.), PINCUS (G.). — The nature and biogenesis of adrenal secretory product. *Recent progress Hormone research*, **6**, 213, 1951.
59. HENRY (R.), THEVENET (M.). — Action du suc digestif d'Helix Pomatic sur les différents stéroïdes conjugués urinaires. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **34**, 886, 1952.
60. HENRY (R.), THEVENET (M.), JARRIGE (P.). — Etude de l'action hydrolysante de la glycuronidase et de la phénolsulfatase du suc digestif d'Helix Pomatic sur les stéroïdes conjugués urinaires. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **34**, 897, 1952.
61. HOLLANDERS (J. L.), BROWN (E. M.), JESSAR (R. A.), BROWN (C. Y.). — Hydrocortisone and cortisone injected into arthritic joints. Comparative effects of and use of hydrocortisone as a local antiarthritic agent. *J. A. M. A.*, **147**, 1629, 1951.
62. HOLLAURO (V. P.), DIMAURO (S.), PERSON (D.). — A diffusion method for the estimation of formaldehydogenic steroids. *Endocrinology*, **49**, 617, 1951.
63. JARRIGE (P.), HENRY (R.). — Etude de l'activité glycuronidase du suc digestif d'Helix pomatic et de sa phénolsulfatase. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **34**, 872, 1952.
64. JAYLE (M. F.). — Exploration biochimique de la surrénale. *Ann. Endocr.*, **12**, 404, 1951.
65. JAYLE (M. F.), DECOURT (J.), MICHARD (J. P.), BAULIEU (E.). — La perfusion I.V. d'A.C.T.H., test d'exploration biochimique de la surrénale. *Ann. Endocr.*, **14**, 886, 1953.
66. JAYLE (M. F.), DESGREZ (J.), SERPICELLI (J.), ROZEG (T.). — Dosage des corticoïdes urinaires après hydrolyse biologique. *Ann. Endocr.*, **14**, 877, 1953.
67. KAGAWA (C. M.), SHIPLEY (E. G.), MEYER (R. K.). — A biological method for determining of sodium retaining substances. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **80**, 281, 1952.

68. KINSELLA (R. A.), BAGGET (B.), GLICK (J. H.). — Studies of enzymatically hydrolyzed urinary neutral lipids. *Fed. Proceed.*, **10**, 208, 1951.
69. KINSELLA (R. A.), GLICK (J. H.). — Hydrolysis of conjugate corticoids with glucuronidase. Neutral reducing lipids. *J. Biol. Chem.*, **203**, 1003, 1953.
70. KRUPP (M. A.), ENGLEMAN (E. P.), WELSH (J. E.), WRENN (H. T.). — Measurements of the excretion of cortisone and compound F. using the Porter-Silber method. *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **12**, 1163, 1952.
71. LICHWITZ (A.), LAMOTTE-BARILLON (S.), DELAVILLE (M. et G.), PANTALEON (J.). — Les II-oxycorticostéroïdes : Hormone protéino-glucidique de la corticosurrénale. *Sem. Hôp. Paris*, **49**, 1589, 1948.
72. LIEBERMANN (S.), DOBRINER (K.), HILL (B.), FIESER (L.), RHOADS (L.). — Studies on steroids metabolism II. Identification and characterizations of ketosteroids isolated from urine of healthy and diseased persons. *J. Biol. Chem.*, **172**, 263, 1948.
73. LIEBERMANN (S.), FUKUSHIMA (D. K.), DOBRINER (K.). — Studies in steroid metabolism VII. Identification and characterization of additionnal ketosteroids isolated from urine of healthy and diseased persons. *J. Biol. Chem.*, **182** : 299, 1950.
74. LIEBERMANN (S.), HARITON (L. B.), DOBRINER (K.). — Alterations in steroids excretion after administration of A.C.T.H. in man. *Fed. Proceed.*, **9** : 196, 1950.
75. LIEBERMANN (S.), HARITON (L. B.), STOKEM (M. B.), STUDER (P. E.), DOBRINER (K.). — Steroids excretion after administration of A.C.T.H. in man. *Fed. Proceed.*, **10**, 216, 1951.
76. LLOYD (C. W.), LOBOTSKY (J.). — Adrenal deficiency, urinary corticosteroid by new method. *J. of Clin. Endocr.*, **11**, 26, 1951.
77. LOWENSTEIN (B. E.), CORCORAN (A. C.), PAGE (I. H.). — Determination of corticosteroids in urine. *Endocrinology*, **39**, 82, 1946.
78. MACH (R. S.), FABRE (J.), DUCKERT (A.), BORTH (R.), DUCOMMUN (P.). — Action clinique et métabolique de l'aldostérone (électrocortine). *J. Suisse Méd.*, **84**, 407, 1904.
79. MARCUS (F.), ROMANOFF (L. P.), PINCUS (G.). — The electrolyte excreting activity of adrenocortical substances. *Endocrinology*, **50**, 286, 1952.
80. MARRIAN (G. P.). — The quantitative determination of the urinary adrenocortical steroids. *J. of Endocrinology*, **7**, LXIX, 1951.
81. MASON (H. L.). — Isolation of adrenal cortical hormones from urine : 17-hydroxycorticosterone and 17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone. *J. Biol. Chem.*, **182**, 131, 1950.
82. MASON (H. L.). — *J. Biol. Chem.*, **184**, 593, 1950.
83. MASSON (G. M. C.), LEWIS (L. A.), CORCORAN (A. C.), PAGE (L. W.). — DOCA in rabbits : stimulation of rabbit toxemia in pregnancy. *J. of Clin. Endocr.*, **13**, 300, 1953.
84. MASSON (G. M. C.), CORCORAN (A. C.), LEWIS (L. A.), PAGE (L. W.). — Toxicity of desoxycorticosterone acetate

- (D.C.A.) in rabbits on high salt diet. *Fed. Proceed.*, **11**, 102, 1952.
85. MASTBOOM (J. L.). — Corticostéroïdes d'origine placentaire et toxémie gravidique. *Gyn. Obst.*, **52**, 399, 1953.
86. MASTBOOM (J. L.). — Effect of D.C.A. on hemodynamics and electrolyte balance of normal pregnant women. *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **14**, 109, 1954.
87. NELSON (B. H.), REICH (H.), SAMUELS (L. T.). — Isolation of a steroid hormone from the adrenal vein-blood of dogs. *Science*, **111**, 578, 1950.
88. NELSON (B. H.), SAMUELS (L. T.). — Method for determination of 17-hydroxycorticosteroids in blood : 17-hydroxycorticosterone in the peripheral circulation. *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **12**, 519, 1952.
89. NELSON (B. H.), SAMUELS (L. T.), WILLARDON (D. G.), TYLER (F. H.). — The levels of 17-hydroxycorticosteroids in human peripheral blood. *J. Clin. Endocr.*, **11**, 1021, 1951.
90. NORYMBERSKI (J. K.), STUBBS (R. D.), WEST (H. F.). — A excrement of adrenocortical activity by assay of 17-ketogenic steroids in urine. *The Lancet*, 27 juin 1953, 1276.
91. PASCHKIS (K. E.), CANTAROW (A.), WALKING (A. A.), BOYLE (B.). — Adrenal cortical hormones levels in adrenal vein and peripheral blood. *Endocrinology*, **47**, 138, 1950.
92. PINCUS (G.), ROMANOFF (L. P.). — Extraction and fractionation of urinary corticoids. *Fed. Proceed*, **9**, 101, 1950.
93. PORTER (C. C.), SILBER (R. H.). — A quantitative coloration for cortisone and related 17, 21-dihydroxy-20-keto-steroids. *J. Biol. Chem.*, **185**, 201, 1950.
94. RABINOVITCH (J.), DECOMBE (J.), FRIEDMANN (I.). — Simplified method of estimating formaldehydogenic corticosteroids in urine. *The Lancet*, 1951, 1201.
95. REDDY (W. S.), JENKINS (B.), THORN (G. W.). — Estimation of 17-hydroxycorticoids in urine. *Metabolism* 1952, **1**, 511.
96. REICH (H.), NELSON (B. H.), GASSNER (F. X.). — Isolation of 17-OH-corticosterone and others steroids ketones from adrenal venous blood of cows. *Fed. Proceed*, **10**, 331, 1951.
97. REICH (H.), NELSON (B. H.), ZAFFARONI (A.). — Isolation of 17-hydroxycorticosterone from blood obtained from adrenal veins of dogs. *J. Biol. Chem.*, **187**, 411, 1950.
98. RICHARDSON (E. M.), BOHAN (F. C.), JONES (F. H.). — The urinary excretion of α -ketolic metabolites of adrenal cortical hormones studied by paper chromatography. *J. Clin. Endocr.*, **12**, 971, 1952.
99. RIVIÈRE, JAUBERT, GOUTARD. — *Maroc Médical* 1952, **330**, 94.
100. RIVOIRE (R.) et Mme PASZKOWSKI. — Le dosage des corticoïdes urinaires. *Presse Médicale*, 1952, **60**, 214.
101. ROMANOFF (L. P.), PLAGER (J.), PINCUS (G.). — The determination of adrenocortical steroids in human urine. *Endocrinology*, **45**, 10, 1949.
102. ROMANOFF (L. P.), WOLFF (R. S.), CONSTANDSEE (M.), PINCUS (G.). — Analysis of urinary steroids following glucuronidase hydrolysis. Extraction and fractionation. *J. of Clin. Endocr. and Metab.*, **13**, 928, 1953.
103. ROMANOFF (L. P.), WOLFF (R. S.), PINCUS (G.). — Extraction and fractionation of urinary corticoids. *Fed. Proceed*, **11**, 131, 1952.

104. ROMANOFF (L. P.), HUDSON (P.), PINCUS (G.). — Isolation of hydrocortisone and corticosterone from human adrenal vein blood. *J. of Clin. Endocr. and Metab.*, **13**, 1546, 1953.
105. ROSENBERG (E.), CORNFIELD (J.), BATES (R. W.), ANDERSON (E.). — Bioassay of adrenal steroids in blood and urine based on eosinophil response ; a statistical analysis. *Endocrinology*, **54**, 563, 1954.
106. SAVARD (K.), KOLFF (W. J.), CORCORAN (A. C.). — Corticosteroids of peripheral blood. *Endocrinology*, **50**, 566, 1952.
107. SANDBERG (A. A.), NELSON (B. H.), GLENN (E. H.), TYLER (F. H.), SAMUELS (L. T.). — 17-hydroxycortico-steroids and 17-ketosteroids in urine of human subjects by method employing-glycuronidase hydrolysis. *J. of Clin. Endocr. and Metab.*, **13**, 1445, 1953.
108. SCHNEIDER (J. J.). — Studies on the excretion of adreno-cortical compounds : Isolation of 17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone and other compounds from the urine of normal males. *J. Biol. Chem.*, **183**, 265, 1950.
109. SCHNEIDER (J. J.). — Further isolation of adrenocortical compounds from male urine. *J. Biol. Chem.*, **194**, 357, 1952.
110. SCHNEIDER (J. J.). — Conversion of desoxycorticosterone to four allopregnane metabolites by rat livers in vitro. *J. Biol. Chem.*, **199**, 235, 1952.
111. SCHNEIDER (J. J.), HORSTMANN (P. M.). — Effects of incubating desoxycorticosterone with various rat tissues. *J. Biol. Chem.*, **191**, 327, 1951.
112. SCHNEIDER (J. J.), HORSTMANN (P. M.). — Effects of incubating compound E. and related steroid with various surviving rat tissues. *J. Biol. Chem.*, **196**, 629, 1952.
113. SCHNEIDER (J. J.), MASON (H. L.). — Studies on intermediary steroid metabolism. *J. Biol. Chem.*, **172**, 771, 1948.
114. SCHNEIDER (J. J.), MASON (H. L.). — Studies on intermediary steroid metabolism. *J. Biol. Chem.*, **175**, 231, 1948.
115. SCHULER (W.), DESAULLES (P.), MEIER. — Elektrocortin wirkung in glycogen-test. *Experientia*, **X**, 142, 1954.
116. SCHWARTZ (J.). — L'exploration fonctionnelle de la cortico-surrénale par les stéroïdes. Ed. Masson 1953.
117. SCHWARTZ (J.), PIVEL (E.). — Le métabolisme de la cortisone et de la dihydro. *Ann. Endocr.*, **14**, 987, 1953.
118. SELYE (H.). — Le syndrome général d'adaptation.^a *Ann. Endocr.*, **7**, 289, 1946.
119. SELYE (H.). — Colloques sur les maladies de l'adaptation. *La science médicale pratique*, n° 8, 1952.
120. SIMPSON (S. A.), TAIT (J. F.). — A quantitative method for the bioassay of the effect of adrenal cortical steroids on mineral metabolism. *Endocrinology*, **50**, 150, 1952.
121. SIMPSON (S. A.), TAIT (J. F.). — Secretion of a saltretaining hormone by the mammalian adrenal cortex. *The Lancet*, **11**, 226, 1952.
122. SIMPSON (S. A.), TAIT (J. F.), WETTSTEIN, NEHER, VON EOW, SCHINDLER, REICHSTEIN. — Isolierung eines neuer Kristallisierten Hormons aus Nebennieren mit besonders hoher Wirksamkeit auf dem Mineralstoff wechsel. *Experientia*, **IX**, 333, 1953.

123. SIMPSON (S. A.), TAIT (J. F.), WETTSTEIN, NEHER, WON EUW, SCHINDLER, REICHSTEIN. — Konstitution der Aldosterone der neuen Mineralocorticoids. *Experientia*, **X**, 132, 1954.
124. SINGER (B.), VENNING (E. H.). — Method of assay of a sodium retaining factor in human urine. *Endocrinology*, **52**, 623, 1953.
125. SMITH (R. W.), MELLINGER (R. C.), PATTI (A. A.). — Modification of the Reddy procedure for 17-hydroxycorticoids in urine. *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **14**, 336, 1954.
126. SWEAT, ABBOTT, JEFFRIES, BLISS. — Adrenocortical steroids in human peripheral and adrenal venous blood as determined by fluorescence. *Fed. Proceed.*, **12**, 141, 1953.
127. TAIT (J. F.), SIMPSON (S. A.), GRUNDY (H. M.). — The effect of adrenal extract on mineral metabolism. *The Lancet*, **1**, 122, 1952.
128. TALBOT (N. B.), EITINGON (A. V.). — Urinary steroids. Use of the periodic acid reaction in the measurement of non ketonic steroids obtained after various types of hydrolysis. *J. Biol. Chem.*, **154**, 605, 1944.
129. TALBOT (N. B.), SALTZMANN (A. H.), WIXON (R. H.), WOLFE (J. K.). — The colorimetric assay of urinary corticosteroid-like substances. *J. Biol. Chem.*, **160**, 535, 1945.
130. TOZIAN (L.). — Cortical steroid excretion in edema of pregnancy, preeclampsia and essential hypertension. *J. Clin. Endocr.*, **9**, 319, 1949.
131. VELEZ (E.), DELTOUR (G.). — Modifications à la méthode de dosage chimique des corticoïdes urinaires formaldéhydrogénés. *Ann. Endocr.*, **13**, 815, 1952.
132. VELEZ (E.), DELTOUR (G.). — L'excrétion urinaire des corticoïdes réducteurs après surcharge en désoxycorticostérone chez le sujet normal ou atteint d'insuffisance corticosurrénale. *Ann. Endocr.*, **13**, 823, 1952.
133. VENNING (E. H.). — Adrenal function in pregnancy. *Endocrinology*, **39**, 203, 1946.
134. VENNING (E. H.). — The association for the study of internal secretions. 33th meeting, *Atlantic City*, 1951, **43**.
135. VENNING (E. H.). — Biological assay of adrenal corticoid. *Endocrinology*, **38**, 79, 1946.
136. VERZAR. — Ciba foundation colloquia on endocrinology. London, vol. II, p. 179, 1952.
137. WILSON (H.). — Methods for determination of formaldehydrogenic steroids by diffusion and by direct reaction. *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **13**, 1465, 1953.
138. WOLFSON (W. Q.), EYA (M.), ROBINSON (W. D.). — Human corticosterone metabolism : I. Corticosterone the principal precursor of urinary neutral Pettenkofer chromogens (dehydroepiandrosterone and derivatives). *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **12**, 970, 1952.
139. WOLFSON (W. Q.), ROBINSON (W. D.), HEMMERLINE (A.), EYA (M.). — Human corticosterone metabolism : II. Evidence for simultaneous cortisone and hydrocortisone sevation by stimulated normal human adrena. *J. Clin. Endocr. and Metab.*, **12**, 970, 1952.
140. ZAFFARONI (A.), BURTON (R. D.). — Identification of corticosteroids of beet adrenal extract by paper chromatography. *J. Biol. Chem.*, **193**, 749, 1951.

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
AVANT-PROPOS	11
CHAPITRE PREMIER. — <i>Composés stéroïdes et stéroïdes corticosurrénaux</i>	13
<i>Stéroïdes corticosurrénaux actifs. Structure et activité</i>	19
Groupement one-3- Δ 4 du noyau A	20
La chaîne latérale en 17	21
Le carbone 11	22
CHAPITRE II. — <i>Activité métabolique des stéroïdes corticosurrénaux</i>	25
Fonction protéinogluclidique	27
Fonction minéralorégulatrice	28
CHAPITRE III. — <i>Le problème de la sécrétion interne corticosurrénale</i>	35
La sécrétion interne des glyco-corticoïdes	35
La sécrétion interne minéralocorticoïde	42
L'aldostérone	44
CHAPITRE IV. — <i>Catabolisme tissulaire des corticostéroïdes</i>	51
Dégradation du système résonant one-3- Δ 4	53
Métabolisme de la chaîne latérale en 17	56

	PAGES
CHAPITRE V. — <i>Les corticoïdes urinaires</i>	63
La « cortin fraction » urinaire	64
Corticoïdes libres et corticoïdes conjuguées.	67
Dosage biologique des corticoïdes urinaires	75
Le dosage chimique des corticoïdes urinaires en clinique	76
Principe des méthodes d'extraction et de dosage des corticoïdes urinaires	78
Techniques plus récentes d'extraction et de dosage des corticoïdes urinaires	86
Hydrolyse acide	88
Hydrolyse enzymatique	89
Techniques récentes utilisant la phénylhydrazine	93
Techniques récentes utilisant les oxydants	99
La technique appliquée au Laboratoire de la Clinique obstétricale	101
Exposé de la technique de M. BETHOUX	103
Applications pratiques de la technique de BETHOUX	106
Moyennes d'élimination journalière normale	106
Comparaison de l'hydrolyse chlorhydrique et de l'hydrolyse enzymatique	108
Élimination des corticoïdes urinaires après administration d'A.C.T.H.	111
Variations de l'excrétion suivant la période du nycthémère	115
CHAPITRE VI. — <i>Corticoïdes et grossesse</i>	120
Travail du Laboratoire de la Clinique obstétricale	127
Discussion	143
CONCLUSIONS	150

